

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2001 年9 月27 日 (27.09.2001)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 01/70974 A1

- (51) 国際特許分類: C12N 15/12, C07K 14/47, 16/18, C12Q 1/68, A61K 38/17, 31/711, 48/00, 45/00, A61P 3/10, 3/04, 35/00, 9/10, 3/06, 25/00, 43/00, A61K 39/395, G01N 33/53, 33/50, 33/15
- (74) 代理人: 弁理士 高橋秀一, 外(TAKAHASHI, Shuichi et al.); 〒532-0024 大阪府大阪市淀川区十三本町2丁目17番85号 武田薬品工業株式会社 大阪工場内 Osaka (JP).
- (21) 国際出願番号: PCT/JP01/02279
- (22) 国際出願日: 2001 年3 月22 日 (22.03.2001)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ: 特願2000-88595 2000 年3 月24 日 (24.03.2000) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 武田薬品工業株式会社 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.) [JP/JP]; 〒541-0045 大阪府大阪市中央区道修町四丁目1番1号 Osaka (JP).
- (81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 谷山佳央 (TANIYAMA, Yoshio) [JP/JP]; 〒305-0821 茨城県つくば市春日1丁目7番地9 武田春日ハイ ツ501号 Ibaraki (JP). 喜多俊文 (KITA, Shunbun) [JP/JP]; 〒662-0823 兵庫県西宮市神呪町12-12 Hyogo (JP). 小宮山朋子 (KOMIYAMA, Tomoko) [JP/JP]; 〒305-0035 茨城県つくば市松代3丁目12番地1-602号 Ibaraki (JP).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告書
— 請求の範囲の補正の期限前の公開であり、補正書受領の際には再公開される。
- 2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: NOVEL PROTEIN, PROCESS FOR PRODUCING THE SAME AND USE THEREOF

(54) 発明の名称: 新規タンパク質、その製造法および用途

(57) Abstract: A novel SSD (sterol-sensing domain)-containing protein originating in human liver, human testis and human brain or its salt: and a DNA encoding the same. Concerning this novel SSD-containing protein, studies are also made on the tissue-specificity, changes in the expression depending on intracellular cholesterol level, construction of a transformant and site-specific expression induction in the brain of patients with Alzheimer's disease.

(57) 要約:

本発明は、ヒト肝臓由来およびヒト精巣由来、ヒト脳由来の新規SSD (sterol-sensing domain) 含有タンパク質またはその塩およびそれをコードするDNAに関する。また、本願新規SSD含有タンパク質の組織特異性、細胞内コレステロールレベルによる発現変化、形質転換体の作成、アルツハイマー患者脳部位特異的発現誘導についての調査も記載されている。

WO 01/70974 A1

明 細 書

新規タンパク質、その製造法および用途

5 技術分野

本発明は、ヒト肝臓由来およびヒト精巢、ヒト脳由来の新規SSD含有タンパク質またはその塩およびそれをコードするDNAに関する。

背景技術

- 10 コレステロールは真核細胞の形質膜に豊富に存在し、膜の透過性や機械的強度・耐久性等に関与し、膜調節の重要な機能を持つ分子であり、また、種々のステロイドホルモン前駆体としても必須な脂質である。動物細胞は生体内の恒常性を保つために、形質膜の主要構成脂質の1つであるコレステロールの細胞内レベルを調節する複雑な機構を備えている。形質膜・細胞内オルガネラにおけるコレステロール濃度は厳密な制御下にあることが知られているが、そのためには必ずその濃度を感知する機能が必要である。それを担う候補としてSSD (sterol-sensing domain)が考えられている [Current Opinion in Structural Biology, 8, 435-439 (1998)]。SSDは当初、細胞内コレステロールの増加で自分自身のプロテアーゼ分解が促進されるコレステロール生合成経路の律速
- 15 酵素、HMG-CoA (3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A)還元酵素と、小胞体のステロールレベル低下でSREBP(ステロール調節エレメント結合タンパク)のプロセッシングを活性化する分子として得られたSCAP (SREBP cleavage activating protein) に相同性を有する5回膜貫通領域が存在することから、この5膜領域がステロール濃度を感知している可能性があるとして提唱された [Cell, 87, 415-426 (1996)]。SSDは、一次構造上それほど高いホモロジーが有るわけではなく (identity 約20%, possibility 約40%程度)、コンセンサスモチーフが存在するわけでもない。しかしながら、その疎水性プロットは極めて良く類似し、二次構造的には良く保存されていると推測される。
- 25

ニーマン・ピック病C型は常染色体劣性遺伝病で、LDL由来コレステロールの

リソソームからの輸送に欠陥をもち、細胞内にLDLコレステロールが異常蓄積し、神経障害と肝脾腫を引き起こす代謝疾患であるが、その原因遺伝子とし最近NPC1がポジショナルクローニングされ、そのタンパクがSSDを持っていることが分かっている [Molecular Medicine Today, 4, 525-531 (1998)] 。 NPC1
5 には現在、そのSSDがリソソームのコレステロールを感知して、閾値以上になると小胞の出芽のようにNPC-顆粒を遊離し、小胞体や形質膜へのコレステロール輸送を行うことが提唱されており [Current Opinion in Lipidology, 9, 131-135 (1998)]、数々の実験事実がこのモデルを支持している [Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 96, 805-810 (1999); J. Biol. Chem., 274, 9627-9635
10 (1999)] 。 細胞内脂質小胞輸送系でセンサー分子が同定されているのはNPC1のみであるが、他のオルガネラにもセンサー輸送小胞系が存在する可能性は高い。

Patchedは基底細胞母斑症候群の候補遺伝子であることが報告されているが [Science, 272, 1668-1671 (1996)]、形態形成にかかわる分泌性タンパク、
15 ヘッジホッグの受容体として機能しており、ヘッジホッグは胎生神経上皮においてコレステロールの修飾を受けている [Nature Genet., 15, 123-124 (1997)]。 SSDは、このPatchedにも認められている [Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol., 62, 191-204 (1997); Science, 277, 228-231 (1997)]。 NPC1はリソソームコレステロールセンサー (lysosome cholesterol sensor) として、
20 Patchedはヘッジホッグの修飾コレステロールのセンサーとして機能していると考えられるので、今までに見いだされた4つのSSD含有タンパク質にはすべてステロールセンサー機能が認められたことになる。最近、さらにSSD含有タンパクとしてTRC8 [Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95, 9572-9577 (1998)]、DHCR (7-dehydrocholesterol reductase) [J. Biol. Chem., 274, 14624-14631
25 (1999)]、Dispatched [Cell, 99, 803-815 (1999)]などが報告されている。

最近P糖蛋白質ABC1がコレステロール搬出の受容体であるという説が浮上しているが [Nature Genetics, 22, 336-345 (1999); Nature Genetics, 22, 347-351 (1999); Nature Genetics, 22, 352-355 (1999)]、以前から多剤耐性 (MDR) 分子が細胞内脂質転送に関与するという報告はあった [Cell, 87,

507-517 (1996)]。興味深いのは一群のMDR阻害剤がコレステロール転送を阻害するのみならず、NPC細胞様のリソソームへの脂質蓄積を来とし、また、催奇形性を有し、これらの強さが相関するという説である [Science, 280, 1603-1607 (1998)]。これらのことから、コレステロール輸送に関わるMDRは
5 SSD含有タンパクと共存もしくは相互作用し、活性調節を受けている可能性があり、ABC1もまた同様の可能性がある」と推定される。また、形質膜と小胞体、ゴルジ体の間には活発な脂質輸送が存在するが、まだセンサー分子は同定されていない。ACATは細胞内コレステロール濃度の上昇に伴い、本来局在する小胞体からプロテアーゼ分解を免れるかの様に細胞質全体に分布することが知られて
10 いるが、ここにセンサー分子の存在を予測させる。

細胞内・外には、これまでに見いだされたSSD含有タンパク質では説明できないステロールセンサーの存在を思わせる現象が多くあり、SSDを有する新規タンパク質を見いだすことが出来れば、それらの中にはマクロファージACATのコレステロール負荷によるタンパク局在性の変化、すなわち、ACAT含有小胞
15 の輸送、マクロファージ中性コレステロールエステラーゼ（例、ホルモンセンサー
シティブリパーゼ（HSL））のコレステロール負荷によるプロテアーゼ分解亢進、小胞体やゴルジ体から形質膜へのコレステロール輸送小胞、形質膜から小胞体へのコレステロール輸送小胞、コレステロール合成系の律速酵素、胆汁酸合成系の律速酵素、ステロイド合成の場であるミトコンドリアへの輸送小胞
20 などに関与する機能分子があることが想定される。

この様にSSD含有タンパクは生理的に非常に重要な役割を演じている可能性は高く、その新規タンパク質の発見および機能解明が待ち望まれていた。

本発明は新規SSD含有タンパク質またはその塩、該タンパク質をコードするDNA、組換えベクター、形質転換体、該タンパク質の製造法、該タンパク質ま
25 たはDNAを含有する医薬、該タンパク質に対する抗体、該タンパク質またはその塩の活性を促進または阻害する化合物のスクリーニング方法、該タンパク質またはその塩のステロール感知能を変化させる化合物スクリーニング方法、該スクリーニング方法によって得られうる化合物またはその塩、並びに該化合物またはその塩などを提供することを目的とする。

- SSDを有する新規タンパク質を見いだすことが出来れば、マクロファージ ACATのコレステロール負荷によるタンパク局在性の変化、すなわち、ACAT含有小胞の輸送、マクロファージ中性コレステロールエステラーゼ（例、ホルモンセンシティブリパーゼ（HSL））のコレステロール負荷によるプロテアーゼ分解亢進、小胞体やゴルジ体から形質膜へのコレステロール輸送小胞、形質膜から小胞体へのコレステロール輸送小胞、コレステロール合成系の律速酵素、胆汁酸合成系の律速酵素、ステロイド合成の場であるミトコンドリアへの輸送小胞などに関与する機能分子の解析をより一層進展させることができ、該タンパク質に対して阻害活性或いは促進活性を発揮し、脂質代謝疾患に関連する種々の疾患、例えば、糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症または神経変性疾患、神経障害などの予防や診断、治療に役立つ新たな医薬品の開発をすることができる。

発明の開示

- 本発明者らは、鋭意研究を重ねた結果、ヒト肝臓、ヒト脳、精巣由来cDNAライブラリーからそれぞれ新規な塩基配列を有するcDNAをクローニングすることに成功した。そして、本発明者らは、得られたcDNAにコードされるタンパク質がSSD含有タンパク質であることを見出した。これらの知見に基づいて、さらに検討を重ねた結果、本発明を完成するに至った。
- すなわち、本発明は、
- (1) 配列番号：16で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩、
 - (2) 配列番号：17で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有する上記(1)記載のタンパク質またはその塩、
 - (3) 配列番号：34で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有する上記(1)記載のタンパク質またはその塩、
 - (4) 配列番号：35で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有する上記(1)記載のタンパク質またはその塩、
 - (5) 配列番号：40で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一

のアミノ酸配列を含有する上記（１）記載のタンパク質またはその塩、

（６）配列番号：８で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：３８で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質またはその塩、

- 5 （７）配列番号：９で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有する上記（６）記載のタンパク質またはその塩、

（８）①上記（１）記載のタンパク質または②配列番号：８で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：３

- 10 ８で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質をコードする塩基配列を含有するDNAを含有するDNA、

（９）①配列番号：７で表される塩基配列の第６４番目～第３９９番目の塩基配列、②配列番号：１５で表される塩基配列、③配列番号：３２で表される塩基配列、④配列番号：３３で表される塩基配列または⑤配列番号：４１で表される塩基配列を含有する上記（８）記載のDNA、

- 15 （１０）上記（８）記載のDNAを含有する組換えベクター、

（１１）上記（１０）記載の組換えベクターで形質転換された形質転換体、

（１２）上記（１１）記載の形質転換体を培養し、該タンパク質を生成せしめることを特徴とする、①上記（１）記載のタンパク質もしくは②配列番号：８で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：３８で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質またはその塩の製造法、

- 20 （１３）①上記（１）記載のタンパク質または②配列番号：８で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：３８で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質またはその塩に対する抗体、

25 （１４）①上記（１）記載のタンパク質または②配列番号：８で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：８で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：３８で表わされるアミノ酸配列

を含まないタンパク質) またはその塩を含有する医薬、

(15) 上記(8)記載のDNAを含有する医薬、

(16) 糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤である上記(14)または(15)記載の医薬、

- 5 (17) 上記(8)記載のDNAまたは上記(13)記載の抗体を含有してなる糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の診断剤、

- (18) ①上記(1)記載のタンパク質または②配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号: 38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質) またはその塩を用いることを特徴とする①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号: 38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質) またはその塩の活性を促進または阻害する化合物またはその塩のスクリーニング方法、
- 10
- 15

- (19) ①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号: 38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質) またはその塩を含有してなる、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号: 38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質) またはその塩の活性を促進または阻害する化合物またはその塩のスクリーニング用キット、
- 20
- 25

(20) 上記(18)記載のスクリーニング方法または上記(19)記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号: 38 で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質) またはその塩の活性を促進または阻害する化合物またはその塩、

(21) 上記(18)記載のスクリーニング方法または上記(19)記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号: 38 で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質) またはその塩の活性を促進または阻害する化合物またはその塩を含有してなる医薬、

(22) 上記(18)記載のスクリーニング方法または上記(19)記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号: 38 で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質) またはその塩の活性を促進する化合物またはその塩を含有してなる糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤、

(23) ①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩を用いることを特徴とする、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号: 38 で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質) またはその塩の

ステロール感知能を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、

- (24) ①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩を含有することを特徴とする、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号: 38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質)またはその塩のステロール感知能を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング用キット、

- (25) 上記(23)記載のスクリーニング方法または上記(24)記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号: 38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質)またはその塩のステロール感知能を変化させる化合物またはその塩、

- (26) 上記(23)記載のスクリーニング方法または上記(24)記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号: 38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質)またはその塩のステロール感知能を変化させる化合物またはその塩を含有してなる医薬、

- (27) 上記(23)記載のスクリーニング方法または上記(24)記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号: 38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質)またはその塩のステロール感知能を変化させる化合物またはその塩を含有してなる医薬、

号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質) またはその塩のステロール感知能を増強させる化合物またはその塩を含有してなる糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤、

- (28) 上記(8)記載のDNAまたはその一部を用いることを特徴とする①
- 5 上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質)のmRNAの定量方法、
- 10 (29) 上記(13)記載の抗体を用いることを特徴とする①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質)
- 15 の定量方法、
- (30) 上記(28)または上記(29)記載の定量方法を用いることを特徴とする、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質)の機能が関連する疾患の診断方法、
- 20 (31) 上記(28)記載の定量方法を用いることを特徴とする、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質)の発現量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、
- 25 (32) 上記(31)記載のスクリーニング方法を用いて得られうる、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と

同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）の発現量を変化させる化合物またはその塩、

- 5 (33) 上記(31)記載のスクリーニング方法を用いて得られうる、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）の発現量を変化させる化合物またはその塩を含有してなる医薬、
- 10 (34) 上記(31)記載のスクリーニング方法を用いて得られうる、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）の発現量を増加させる化合物またはその塩を含有してなる糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤、
- 15 (35) 上記(29)記載の定量方法を用いることを特徴とする、細胞内の①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）のタンパク質量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、
- 20 (36) 上記(35)記載のスクリーニング方法を用いて得られうる、細胞内における①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配

列を含まないタンパク質)のタンパク質量を変化させる化合物またはその塩、
(37) 上記(35)記載のスクリーニング方法を用いて得られうる、細胞内
における①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号:8で表わされる
アミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパ
5 ク質(好ましくは、配列番号:8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実
質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号:38で表わされるアミノ酸配
列を含まないタンパク質)のタンパク質量を変化させる化合物またはその塩を
含有してなる医薬、

(38) 上記(35)記載のスクリーニング方法を用いて得られうる、細胞内にお
10 ける①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号:8で表わされるアミ
ノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質
(好ましくは、配列番号:8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的
に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号:38で表わされるアミノ酸配列を
含まないタンパク質)のタンパク質量を増加させる化合物またはその塩を含有
15 してなる糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経
障害の予防・治療剤、

(39) SSD含有タンパク質に働いて細胞内コレステロール輸送調節作用を
有する化合物またはその塩を含有してなる糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高
脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤、

20 (40) 哺乳動物に対して、①上記(1)記載のタンパク質または②配列番号:
8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を
含有するタンパク質(好ましくは、配列番号:8で表わされるアミノ酸配列と
同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号:38で表わさ
れるアミノ酸配列を含まないタンパク質)またはその塩の有効量を投与するこ
25 とを特徴とする糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患また
は神経障害の予防・治療方法、

(41) 哺乳動物に対して、上記(8)記載のDNAの有効量を投与すること
を特徴とする糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または
神経障害の予防・治療方法、

- (4 2) 哺乳動物に対して、上記(1 8)記載のスクリーニング方法または上記(1 9)記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号: 3 8 で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質)またはその塩の活性を促進する化合物またはその塩の有効量を投与することを特徴とする糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療方法、
- 10 (4 3) 哺乳動物に対して、上記(2 3)記載のスクリーニング方法または上記(2 4)記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号: 3 8 で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質)またはその塩のステロール感知能を増強させる化合物またはその塩の有効量を投与することを特徴とする糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療方法、
- 15 (4 4) 哺乳動物に対して、上記(3 1)記載のスクリーニング方法を用いて得られうる、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号: 3 8 で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質)の発現量を増加させる化合物またはその塩の有効量を投与することを特徴とする糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療方法、
- 20 (4 5) 哺乳動物に対して、SSD含有タンパク質に働いて細胞内コレステロール輸送調節作用を有する化合物またはその塩の有効量を投与することを特徴とする糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経
- 25

障害の予防・治療方法、

(46) 糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤を製造するための①上記(1)記載のタンパク質または②配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号: 38 で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質) またはその塩の使用、

(47) 糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤を製造するための上記(8)記載のDNAの使用、

10 (48) 糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤を製造するための上記(18)記載のスクリーニング方法または上記(19)記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号: 38 で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質) またはその塩の活性を促進する化合物またはその塩の使用、

20 (49) 糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤を製造するための哺乳動物に対して、上記(23)記載のスクリーニング方法または上記(24)記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質(好ましくは、配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号: 38 で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質) またはその塩のステロール感知能を増強させる化合物またはその塩の使用、

25 (50) 糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤を製造するための上記(31)記載のスクリーニング方法を用いて得られうる、①上記(1)記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8

- で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）の発現量を増加させる化合物またはその塩の使用、
- 5 (51) 糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤を製造するためのSSD含有タンパク質に働いて細胞内コレステロール輸送調節作用を有する化合物またはその塩の使用などに関する、さらには、
- 10 (52) タンパク質が、①配列番号：16で表わされるアミノ酸配列中の1または2個以上（好ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～9個程度、さらに好ましくは数個（1～5個））のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列、②配列番号：16で表わされるアミノ酸配列に1または2個以上（好ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1
- 15 ～5個））のアミノ酸が付加したアミノ酸配列、③配列番号：16で表わされるアミノ酸配列中の1または2個以上（好ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1～5個））のアミノ酸が他のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列、または④それらを組み合わせたアミノ酸配列を含有するタンパク質である上記(1)記載のタンパク質またはその
- 20 塩、
- (53) タンパク質が、①配列番号：8で表わされるアミノ酸配列で表わされるアミノ酸配列中の1または2個以上（好ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～9個程度、さらに好ましくは数個（1～5個））のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列、②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列で表わされる
- 25 アミノ酸配列に1または2個以上（好ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1～5個））のアミノ酸が付加したアミノ酸配列、③配列番号：8で表わされるアミノ酸配列で表わされるアミノ酸配列中の1または2個以上（好ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1～5個））のアミノ酸が他の

アミノ酸で置換されたアミノ酸配列、または④それらを組み合わせたアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質である上記（6）記載のタンパク質またはその塩、

- （54）上記（1）～（3）のいずれかに記載のタンパク質の部分ペプチド、
- 5 （55）ステロール感知能を有する上記（54）記載の部分ペプチド、
- （56）（i）①上記（1）記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）もしくはその塩と、ステロールとを接触させた場合と、（ii）①上記（1）記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）またはその塩タンパク質とステロールおよび試験化合物とを接触させた場合との比較を行なうことを特徴とする上記（23）記載のスクリーニング方法、
- 15 （57）（i）ステロールを①上記（1）記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）を含有する細胞に接触させた場合と、（ii）ステロールおよび試験化合物を①上記（1）記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）を含有する細胞に接触させた場合における、該タンパク質を介した細胞刺激活性を測定し、比較することを特徴とする①上記（1）記載のタンパク質または②配列番号：8で
- 20
- 25

- 表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）のステロール感知能を変化させる化合物
- 5 またはその塩のスクリーニング方法、
- （58）ステロールを上記（11）記載の形質転換体を培養することによって該形質転換体の細胞膜に発現したタンパク質に接触させた場合と、ステロールおよび試験化合物を上記（11）記載の形質転換体を培養することによって該形質転換体の細胞膜に発現したタンパク質に接触させた場合における、該タン
- 10 パク質を介する細胞刺激活性を測定し、比較することを特徴とする①上記（1）記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）
- 15 のステロール感知能を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、
- （59）上記（56）または（57）記載のスクリーニング方法で得られうる、①上記（1）記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一
- 20 のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）のステロール感知能を変化させる化合物またはその塩、
- （60）上記（57）または上記（58）記載のスクリーニング方法で得られうる、①上記（1）記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク
- 25 質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）のステロール感知能を変化させる化合物またはその塩を含有することを特徴とする医薬、
- （61）①上記（1）記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされる

- アミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）を含有する細胞を含有することを特徴とする上記
- 5 (24) 記載のスクリーニング用キット、
- (62) ①上記(1) 記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配
- 10 列を含まないタンパク質）を含有する細胞の膜画分を含有することを特徴とする上記(24) 記載のスクリーニング用キット、
- (63) 上記(11) 記載の形質転換体を培養することによって該形質転換体の細胞膜に発現したタンパク質を含有することを特徴とする上記(24) 記載のスクリーニング用キット、
- 15 (64) 上記(61) ～(63) 記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、①上記(1) 記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配
- 20 列を含まないタンパク質）のステロール感知能を変化させる化合物またはその塩、
- (65) 上記(61) ～(63) 記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、①上記(1) 記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタン
- 25 パク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）のステロール感知能を変化させる化合物またはその塩を含有することを特徴とする医薬、
- (66) 上記(13) 記載の抗体と、①上記(1) 記載のタンパク質もしくは

- ②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）もしくは③上記（1）記載のタンパク質もしくは④配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）の部分ペプチド、またはその塩とを接触させることを特徴とする①上記（1）記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）もしくは③上記（1）記載のタンパク質もしくは④配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）の部分ペプチド、またはその塩の定量法、
（67）上記（13）記載の抗体と、被検液および標識化された①上記（1）記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）もしくは③上記（1）記載のタンパク質もしくは④配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）の部分ペプチド、またはその塩とを競合的に反応させ、該抗体に結合した標識化された①上記（1）記載のタンパク質もしくは②

- 配列番号：８で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：８で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：３８で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）もしくは③上記（１）記載
- 5 のタンパク質もしくは④配列番号：８で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：８で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：３８で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）の部分ペプチド、またはその塩の割合を測定することを特徴とする被検液中の
- 10 ①上記（１）記載のタンパク質もしくは②配列番号：８で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：８で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：３８で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）もしくは③上記（１）記載のタンパク質もしくは④配列番号：
- 15 ８で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列番号：８で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：３８で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）の部分ペプチドまたはその塩の定量法、および
- 20 （６８）被検液と担体上に不溶化した上記（１３）記載の抗体および標識化された上記（１３）記載の抗体とを同時あるいは連続的に反応させたのち、不溶化担体上の標識剤の活性を測定することを特徴とする被検液中の①上記（１）記載のタンパク質もしくは②配列番号：８で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質（好ましくは、配列
- 25 番号：８で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：３８で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質）またはその塩の定量法などを提供する。

図面の簡単な説明

図1はSSP1 mRNAの発現組織特異性の解析結果を示す。図中、heartは心臓を、brainは脳を、placentaは胎盤を、lungは肺を、liverは肝臓を、skeletal muscleは骨格筋を、kidneyは腎臓を、pancreasは膵臓を、spleenは脾臓を、thymusは胸腺を、prostateは前立腺を、testisは精巣を、ovaryは卵巣を、small intestineは小腸を、colonは大腸を、PBL(peripheral blood monocyte)は末梢血白血球を、stomachは胃を、thyroidは甲状腺を、spinal cordは脊髄を、tracheaは気管を、adrenal grandは副腎を、bone marrowは骨髄を示す。

図2はSSP2 mRNAの発現組織特異性の解析結果を示す。図中、heartは心臓を、brainは脳を、placentaは胎盤を、lungは肺を、liverは肝臓を、skeletal muscleは骨格筋を、kidneyは腎臓を、pancreasは膵臓を、spleenは脾臓を、thymusは胸腺を、prostateは前立腺を、testisは精巣を、ovaryは卵巣を、small intestineは小腸を、colonは大腸を、PBL(peripheral blood monocyte)は末梢血白血球を、stomachは胃を、thyroidは甲状腺を、spinal cordは脊髄を、tracheaは気管を、adrenal grandは副腎を、bone marrowは骨髄を示す。

図3はSSP1の発現解析を行った結果を示す。図中、横軸は反応液中のSSP1 cDNAのコピー濃度(copies/ μ l)を、縦軸は検出域に達するに要したPCRサイクル数を示す。

図4はSSP2の発現解析を行った結果を示す。図中、横軸は反応液中のSSP2 cDNAのコピー濃度(copies/ μ l)を、縦軸は検出域に達するに要したPCRサイクル数を示す。

図5はSSP1の遺伝子発現組織特異性を調べた結果を示す。図中、縦軸のC a c o o - 2は結腸癌由来ヒト細胞株Caco-2細胞を、H e p G 2は肝癌由来ヒト細胞株HepG2を、M. G r a n dは乳腺を、B. M a r r o wは骨髄を、A d i p o c y t eは脂肪細胞を、R e t i n aは網膜を、U t e r u sは子宮を、P r o s t a t eは前立腺を、S p l e e nは脾臓を、P a n c r e a sは膵臓を、F e t u s B r a i nは胎児脳を、P. G r a n dは脳下垂体を、T e s t i sは精巣を、L e u k o c y t eは白血球を、C o l o nは大腸を、A. G r a n dは副腎を、O v a r yは卵巣を、S. M u s c l eは平滑筋を、S. I n t e s t i n eは小腸を、L u n gは肺を、L i v e rは肝臓を、K i d

neyは腎臓を、Heartは心臓を、Fetusは胎児を示す。横軸は遺伝子の発現量を示す。

図6はノーザンブロットによるSSP1 mRNAの小腸部位特異的発現を調べた結果を示す。

- 5 図7はHepG2細胞内コレステロールレベルによるSSP1遺伝子の発現変化を調べた結果を示す。

図8はSSP2遺伝子の神経系細胞株での神経芽細胞腫特異的発現とIMR-32細胞での分化依存性発現誘導を調べた結果を示す。横軸の数値はSSP2遺伝子の発現量を示す。

- 10 図9はSSP1安定発現細胞のSSP1タンパクの産生量を調べた結果を示す。

図10はSSP1安定過剰発現型HepG2細胞におけるApoBリポタンパク分泌量を調べた結果を示す。縦軸はApoBリポタンパク分泌量を示す。

- 図11はアルツハイマー病患者におけるSSP2mRNAの脳部位特異的発現を調べた結果を示す。縦軸のCerebellumは小脳を、Amygdalahは扁桃体を、Hippocampusは海馬を、Temporal Lobeは側頭葉を、Parietal Lobeは頭頂葉を、Occipital Lobeは後頭葉を、Frontal Lobeは前頭葉を示す。横軸はSSP2mRNA発現量を示す。
- 15

- 20 発明を実施するための最良の形態

本発明のタンパク質は、(1)配列番号:16で表わされるアミノ酸配列(SSD配列)と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質または(2)配列番号:8で表わされるアミノ酸配列(SSD配列)と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号:38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質である。

25

本発明のタンパク質は、例えば、ヒトや哺乳動物(例えば、モルモット、ラット、マウス、ウサギ、ブタ、ヒツジ、ウシ、サルなど)のあらゆる細胞(例えば、脾細胞、神経細胞、グリア細胞、膵臓β細胞、骨髄細胞、メサンギウム細胞、ランゲルハンス細胞、表皮細胞、上皮細胞、内皮細胞、繊維芽細胞、繊

- 維細胞、筋細胞、脂肪細胞、免疫細胞（例、マクロファージ、T細胞、B細胞、ナチュラルキラー細胞、肥満細胞、好中球、好塩基球、好酸球、単球）、巨核球、滑膜細胞、軟骨細胞、骨細胞、骨芽細胞、破骨細胞、乳腺細胞、肝細胞もしくは間質細胞、またはこれら細胞の前駆細胞、幹細胞もしくはガン細胞など）
- 5 や血球系の細胞、またはそれらの細胞が存在するあらゆる組織、例えば、脳、脳の各部位（例、嗅球、扁桃核、大脳基底球、海馬、視床、視床下部、視床下核、大脳皮質、延髄、小脳、後頭葉、前頭葉、側頭葉、被殻、尾状核、脳梁、黒質）、脊髄、下垂体、胃、脾臓、腎臓、肝臓、生殖腺、甲状腺、胆のう、骨髓、副腎、皮膚、筋肉、肺、消化管（例、大腸、小腸）、血管、心臓、胸腺、
- 10 脾臓、顎下腺、末梢血、末梢血球、前立腺、睾丸、精巣、卵巣、胎盤、子宮、骨、関節、骨格筋など（特に、脳や脳の各部位）に由来するタンパク質であってもよく、また合成タンパク質であってもよい。

- 配列番号：16で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列としては、例えば、配列番号：16で表わされるアミノ酸配列と約50%以上、
- 15 好ましくは約60%以上、より好ましくは約70%以上、さらに好ましくは約80%以上、なかでも好ましくは約90%以上、最も好ましくは約95%以上の相同性を有するアミノ酸配列などが挙げられる。

- 本発明の配列番号：16で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質としては、例えば、配列番号：16で表わされる
- 20 アミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：16で表わされるアミノ酸配列を有するタンパク質と実質的に同質の活性を有するタンパク質などが好ましい。

本発明の配列番号：16で表わされるアミノ酸配列として具体的には、例えば、

- 25 （１）配列番号：17で表わされるアミノ酸配列を含有するタンパク質（例えば、ヒト精巣由来のSSP2）、
- （２）配列番号：34で表わされるアミノ酸配列を含有するタンパク質（例えば、ヒト精巣由来の未成熟SSP2）、
- （３）配列番号：35で表わされるアミノ酸配列を含有するタンパク質（例え

ば、ヒト精巣由来の未成熟SSP2)、または

(4) 配列番号: 40で表わされるアミノ酸配列を含有するタンパク質(例えば、ヒト脳由来のSSP2)などが挙げられる。

さらに、本発明のタンパク質には、配列番号: 17、配列番号: 34、配列
5 番号: 35または配列番号: 40で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一の
アミノ酸配列を含有するタンパク質も含まれる。

配列番号: 17、配列番号: 34、配列番号: 35または配列番号: 40で
表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列としては、例えば、配
列番号: 17、配列番号: 34、配列番号: 35または配列番号: 40で表わ
10 されるアミノ酸配列と約50%以上、好ましくは約60%以上、より好ましく
は約70%以上、さらに好ましくは約80%以上、なかでも好ましくは約9
0%以上、最も好ましくは約95%以上の相同性を有するアミノ酸配列などが
挙げられる。

本発明の配列番号: 17、配列番号: 34、配列番号: 35または配列番号:
15 40で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタ
ンパク質としては、例えば、配列番号: 17、配列番号: 34、配列番号: 3
5または配列番号: 40で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸
配列を含有し、配列番号: 17、配列番号: 34、配列番号: 35または配列
番号: 40で表わされるアミノ酸配列を有するタンパク質と実質的に同質の活
20 性を有するタンパク質などが好ましい。

配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列とし
ては、例えば、配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と約50%以上、好ま
しくは約60%以上、より好ましくは約70%以上、さらに好ましくは約8
0%以上、なかでも好ましくは約90%以上、最も好ましくは約95%以上の
25 相同性を有するアミノ酸配列などが挙げられる。

本発明の配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸
配列を含有するタンパク質としては、例えば、配列番号: 8で表わされるアミ
ノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号: 8で表わされる
アミノ酸配列を有するタンパク質と実質的に同質の活性を有するタンパク質

などが好ましい。

本発明の配列番号：８で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：３８で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質として、より具体的には、例えば、①配列番号：９で表わされるアミノ酸配列の第２番目～１３番目のアミノ酸配列または②配列番号：９で表わされるアミノ酸配列を含有するタンパク質（例えば、ヒト肝臓由来のＳＳＰ１）などが挙げられる。

さらに、本発明のタンパク質には、①配列番号：９で表わされるアミノ酸配列の第２番目～１３番目のアミノ酸配列または②配列番号：９で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質も含まれる。

①配列番号：９で表わされるアミノ酸配列の第２番目～１３番目のアミノ酸配列または②配列番号：９で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列としては、例えば、①配列番号：９で表わされるアミノ酸配列の第２番目～１３番目のアミノ酸配列または②配列番号：９で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列と約５０％以上、好ましくは約６０％以上、より好ましくは約７０％以上、さらに好ましくは約８０％以上、なかでも好ましくは約９０％以上、最も好ましくは約９５％以上の相同性を有するアミノ酸配列などが挙げられる。

本発明の①配列番号：９で表わされるアミノ酸配列の第２番目～１３番目のアミノ酸配列または②配列番号：９で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質としては、例えば、①配列番号：９で表わされるアミノ酸配列の第２番目～１３番目のアミノ酸配列または②配列番号：９で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、①配列番号：９で表わされるアミノ酸配列の第２番目～１３番目のアミノ酸配列または②配列番号：９で表わされるアミノ酸配列を有するタンパク質と実質的に同質の活性を有するタンパク質などが好ましい。

実質的に同質の活性としては、例えば、ステロール（好ましくはコレステロール）感知能などが挙げられる。実質的に同質とは、それらの活性が性質的に

同質であることを示す。したがって、ステロール感知能などの活性が同等（例、約0.01～100倍、好ましくは約0.5～20倍、より好ましくは約0.5～2倍）であることが好ましいが、これらの活性の程度やタンパク質の分子量などの量的要素は異なってもよい。

- 5 ステロール感知能などの活性の測定は、ステロール濃度に応じた細胞応答など（細胞刺激活性など）の測定方法またはそれに準じた方法により行なうことができるが、例えば、後述するスクリーニング方法に従って測定することができる。

10 本発明のタンパク質としては、①配列番号：16で表わされるアミノ酸配列中の1または2個以上（好ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1～5個））のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列、②配列番号：16で表わされるアミノ酸配列に1または2個以上（好ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1～5個））のアミノ酸が付加したアミノ酸配列、③配列番号：16
15 で表わされるアミノ酸配列中の1または2個以上（好ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1～5個））のアミノ酸が他のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列、または④それらの欠失、付加または置換を組み合わせたアミノ酸配列を含有する蛋白質なども用いられる。

20 また、本発明のタンパク質としては、①配列番号：8で表わされるアミノ酸配列中の1または2個以上（好ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1～5個））のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列、②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列に1または2個以上（好ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1～5個））のアミノ酸が付加したアミノ酸配列、③配列番号：8で
25 表わされるアミノ酸配列中の1または2個以上（好ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1～5個））のアミノ酸が他のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列、または④それらの欠失、付加または置換を組み合わせたアミノ酸配列を含有し、配列番号：3で表わされる

アミノ酸配列を含まない蛋白質なども用いられる。

- また、本発明のタンパク質としては、①配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第22番目～1332番目のアミノ酸配列、配列番号：9で表わされるアミノ酸配列、配列番号：17で表わされるアミノ酸配列、配列番号：34、
- 5 配列番号：35で表わされるアミノ酸配列または配列番号：40で表わされるアミノ酸配列中の1または2個以上（好ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1～5個））のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列、②配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第22番目～1332番目のアミノ酸配列、配列番号：9で表わされるアミノ酸配列、配
- 10 列番号：17で表わされるアミノ酸配列または配列番号：40で表わされるアミノ酸配列に1または2個以上（好ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1～5個））のアミノ酸が付加したアミノ酸配列、③配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第22番目～1
- 15 332番目のアミノ酸配列、配列番号：9で表わされるアミノ酸配列、配列番号：17で表わされるアミノ酸配列または配列番号：40で表わされるアミノ酸配列中の1または2個以上（好ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1～5個））のアミノ酸が他のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列、または④それらの欠失、付加または置換を組み合わせたアミノ酸配列を含有するタンパク質なども用いられる。
- 20 ただし、本発明のタンパク質には、配列番号：9で表わされるアミノ酸配列に配列番号：38で表わされるアミノ酸配列が挿入されたアミノ酸配列を含むタンパク質（ゲノミクス（Genomics），65，137-145，2000）は含まれない。

- また、本発明の蛋白質から、配列番号：42で表わされる塩基配列を有する
- 25 DNAにコードされるアミノ酸配列を有するタンパク質を除くのが好ましい。

本明細書におけるタンパク質は、ペプチド標記の慣例に従って左端がN末端（アミノ末端）、右端がC末端（カルボキシル末端）である。配列番号：8で表わされるアミノ酸配列を含有するタンパク質をはじめとする、本発明のタンパク質は、C末端が通常カルボキシル基（-COOH）またはカルボキシレー

ト($-\text{COO}^-$)であるが、C末端がアミド($-\text{CONH}_2$)またはエステル($-\text{COOR}$)であってもよい。

ここでエステルにおけるRとしては、例えば、メチル、エチル、 n -プロピル、イソプロピルもしくは n -ブチルなどの C_{1-6} アルキル基、例えば、シクロペンチル、シクロヘキシルなどの C_{3-8} シクロアルキル基、例えば、フェニル、 α -ナフチルなどの C_{6-12} アリール基、例えば、ベンジル、フェネチルなどのフェニル- C_{1-2} アルキル基もしくは α -ナフチルメチルなどの α -ナフチル- C_{1-2} アルキル基などの C_{7-14} アラルキル基のほか、経口用エステルとして汎用されるピバロイルオキシメチル基などが用いられる。

10 本発明のタンパク質がC末端以外にカルボキシル基(またはカルボキシレート)を有している場合、カルボキシル基がアミド化またはエステル化されているものも本発明のタンパク質に含まれる。この場合のエステルとしては、例えば上記したC末端のエステルなどが用いられる。

さらに、本発明のタンパク質には、上記したタンパク質において、N末端の
15 メチオニン残基のアミノ基が保護基(例えば、ホルミル基、アセチルなどの C_{2-6} アルカノイル基などの C_{1-6} アシル基など)で保護されているもの、N端側が生体内で切断され生成したグルタミル基がピログルタミン酸化したもの、分子内のアミノ酸の側鎖上の置換基(例えば、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{SH}$ 、アミノ基、イミダゾール基、インドール基、グアニジノ基など)が適当な保護基(例えば、
20 ホルミル基、アセチルなどの C_{2-6} アルカノイル基などの C_{1-6} アシル基など)で保護されているもの、あるいは糖鎖が結合したいわゆる糖タンパク質などの複合タンパク質なども含まれる。

本発明のタンパク質の部分ペプチド(以下、部分ペプチドと略記する場合がある)としては、前記した本発明のタンパク質の部分ペプチドであれば何れのものであってもよいが、例えば、本発明のタンパク質分子のうち、細胞膜貫通
25 領域であって、ステロールに対する結合活性を有するものなどが用いられる。

具体的には、(1)配列番号：16またはで表わされるアミノ酸配列を有するタンパク質または(2)配列番号：8で表わされるアミノ酸配列を有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質の部分ペプチド

としては、図 3 で示される疎水性プロット解析において膜貫通領域（疎水性（Hydrophobic）部位）であると分析された部分を含むペプチドである。また、親水性（Hydrophilic）部位を一部に含むペプチドも同様に用いることができる。個々のドメインを個別に含むペプチドも用い得るが、複数のドメインを同時に含む部分のペプチドでも良い。

本発明の部分ペプチドのアミノ酸の数は、前記した本発明のタンパク質の構成アミノ酸配列のうち少なくとも 20 個以上、好ましくは 50 個以上、より好ましくは 100 個以上のアミノ酸配列を有するペプチドなどが好ましい。

実質的に同一のアミノ酸配列とは、これらアミノ酸配列と約 50 % 以上、好ましくは約 70 % 以上、より好ましくは約 80 % 以上、さらに好ましくは約 90 % 以上、最も好ましくは約 95 % 以上の相同性を有するアミノ酸配列を示す。

ここで、「実質的に同質の活性」とは、前記と同意義を示す。「実質的に同質の活性」の測定は前記と同様に行なうことができる。

また、本発明の部分ペプチドは、上記アミノ酸配列中の 1 または 2 個以上（好ましくは、1～10 個程度、さらに好ましくは数個（1～5 個））のアミノ酸が欠失し、または、そのアミノ酸配列に 1 または 2 個以上（好ましくは、1～20 個程度、より好ましくは 1～10 個程度、さらに好ましくは数個（1～5 個））のアミノ酸が付加し、または、そのアミノ酸配列中の 1 または 2 個以上（好ましくは、1～10 個程度、より好ましくは数個、さらに好ましくは 1～5 個程度）のアミノ酸が他のアミノ酸で置換されていてもよい。

また、本発明の部分ペプチドは C 末端が通常カルボキシル基（ $-\text{COOH}$ ）またはカルボキシレート（ $-\text{COO}^-$ ）であるが、前記した本発明のタンパク質のごとく、C 末端がアミド（ $-\text{CONH}_2$ ）またはエステル（ $-\text{COOR}$ ）であってもよい。

さらに、本発明の部分ペプチドには、前記した本発明のタンパク質と同様に、N 末端のメチオニン残基のアミノ基が保護基で保護されているもの、N 端側が生体内で切断され生成した Gln がピログルタミン酸化したもの、分子内のアミノ酸の側鎖上の置換基が適当な保護基で保護されているもの、あるいは糖鎖が結合したいわゆる糖ペプチドなどの複合ペプチドなども含まれる。

また、本発明の部分ペプチドはC末端が通常カルボキシル基 ($-COOH$) またはカルボキシレート ($-COO^-$) であるが、前記した本発明のタンパク質のごとく、C末端がアミド ($-CONH_2$) またはエステル ($-COOR$) であってもよい。

- 5 本発明のタンパク質またはその部分ペプチドの塩としては、酸または塩基との生理学的に許容される塩が挙げられ、とりわけ生理学的に許容される酸付加塩が好ましい。この様な塩としては、例えば無機酸（例えば、塩酸、リン酸、臭化水素酸、硫酸）との塩、あるいは有機酸（例えば、酢酸、ギ酸、プロピオン酸、フマル酸、マレイン酸、コハク酸、酒石酸、クエン酸、リンゴ酸、蔞酸、安息香酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸）との塩などが用いられる。

- 10 本発明のタンパク質またはその塩は、前述したヒトや哺乳動物の細胞または組織から自体公知のタンパク質の精製方法によって製造することもできるし、後述する本発明のタンパク質をコードするDNAを含有する形質転換体を培養することによっても製造することができる。また、後述のタンパク質合成法
15 またはこれに準じて製造することもできる。

ヒトや哺乳動物の組織または細胞から製造する場合、ヒトや哺乳動物の組織または細胞をホモジナイズした後、酸などで抽出を行ない、該抽出液を逆相クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィーなどのクロマトグラフィーを組み合わせてることにより精製単離することができる。

- 20 本発明のタンパク質もしくはその部分ペプチドまたはその塩またはそのアミド体の合成には、通常市販のタンパク質合成用樹脂を用いることができる。そのような樹脂としては、例えば、クロロメチル樹脂、ヒドロキシメチル樹脂、ベンズヒドリルアミン樹脂、アミノメチル樹脂、4-ベンジルオキシベンジルアルコール樹脂、4-メチルベンズヒドリルアミン樹脂、PAM樹脂、4-ヒドロキシメチルメチルフェニルアセトアミドメチル樹脂、ポリアクリルアミド樹脂、
25 4-(2',4'-ジメトキシフェニル-ヒドロキシメチル)フェノキシ樹脂、4-(2',4'-ジメトキシフェニル-Fmocアミノエチル)フェノキシ樹脂などを挙げる事ができる。このような樹脂を用い、 α -アミノ基と側鎖官能基を適当に保護したアミノ酸を、目的とするタンパク質の配列通りに、自体公知の各

種縮合方法に従い、樹脂上で縮合させる。反応の最後に樹脂からタンパク質を切り出すと同時に各種保護基を除去し、さらに高希釈溶液中で分子内ジスルフィド結合形成反応を実施し、目的のタンパク質またはそのアミド体を取得する。

上記した保護アミノ酸の縮合に関しては、タンパク質合成に使用できる各種
5 活性化試薬を用いることができるが、特に、カルボジイミド類がよい。カルボジイミド類としては、DCC、N,N'-ジイソプロピルカルボジイミド、N-エチル-N'-(3-ジメチルアミノプロリル)カルボジイミドなどが用いられる。これらによる活性化にはラセミ化抑制添加剤（例えば、HOBt, HOOBt）とともに保護アミノ酸を直接樹脂に添加するかまたは、対称酸無水物またはHOBtエステルあるいはHOOBtエステルとしてあらかじめ保護アミノ酸の活性化を行なった後に樹脂
10 に添加することができる。

保護アミノ酸の活性化や樹脂との縮合に用いられる溶媒としては、タンパク質縮合反応に使用しうることが知られている溶媒から適宜選択されうる。例えば、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、N-メチルピロリドンなどの酸アミド類、塩化メチレン、クロロホルムなどのハロゲン化炭化水素類、トリフルオロエタノールなどのアルコール類、ジメチルスルホキシドなどのスルホキシド類、ピリジン、ジオキサン、テトラヒドロフランなどのエーテル類、アセトニトリル、プロピオニトリルなどのニトリル類、酢酸メチル、酢酸エチルなどのエステル類あるいはこれらの適宜の混合物などが
15 用いられる。反応温度はタンパク質結合形成反応に使用され得ることが知られている範囲から適宜選択され、通常約-20℃～50℃の範囲から適宜選択される。活性化されたアミノ酸誘導体は通常1.5～4倍過剰で用いられる。ニンヒドリン反応を用いたテストの結果、縮合が不十分な場合には保護基の脱離を行うことなく縮合反応を繰り返すことにより十分な縮合を行なうことがで
20 きる。反応を繰り返しても十分な縮合が得られないときには、無水酢酸またはアセチルイミダゾールを用いて未反応アミノ酸をアセチル化することができる。

原料のアミノ基の保護基としては、例えば、Z、Boc、ターシャリーペンチルオキシカルボニル、イソボルニルオキシカルボニル、4-メトキシベンジル

オキシカルボニル、Cl-Z、Br-Z、アダマンチルオキシカルボニル、トリフルオロアセチル、フタロイル、ホルミル、2-ニトロフェニルスルフェニル、ジフェニルホスフィノチオイル、Fmocなどが用いられる。

- カルボキシル基は、例えば、アルキルエステル化（例えば、メチル、エチル、
5 プロピル、ブチル、ターシャリーブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、
シクロヘプチル、シクロオクチル、2-アダマンチルなどの直鎖状、分枝状も
しくは環状アルキルエステル化）、アラルキルエステル化（例えば、ベンジル
エステル、4-ニトロベンジルエステル、4-メトキシベンジルエステル、4-
クロロベンジルエステル、ベンズヒドリルエステル化）、フェナシルエステ
10 ル化、ベンジルオキシカルボニルヒドラジド化、ターシャリーブトキシカルボ
ニルヒドラジド化、トリチルヒドラジド化などによって保護することができる。

- セリンの水酸基は、例えば、エステル化またはエーテル化によって保護する
ことができる。このエステル化に適する基としては、例えば、アセチル基など
の低級アルカノイル基、ベンゾイル基などのアロイル基、ベンジルオキシカル
15 ボニル基、エトキシカルボニル基などの炭酸から誘導される基などが用いられ
る。また、エーテル化に適する基としては、例えば、ベンジル基、テトラヒド
ロピラニル基、t-ブチル基などである。

チロシンのフェノール性水酸基の保護基としては、例えば、Bzl、Cl₂-Bzl、
2-ニトロベンジル、Br-Z、ターシャリーブチルなどが用いられる。

- 20 ヒスチジンのイミダゾールの保護基としては、例えば、Tos、4-メトキシ-
2,3,6-トリメチルベンゼンスルホニル、DNP、ベンジルオキシメチル、Bum、Boc、
Trt、Fmocなどが用いられる。

- 原料のカルボキシル基の活性化されたものとしては、例えば、対応する酸無
水物、アジド、活性エステル〔アルコール（例えば、ペンタクロロフェノール、
25 2,4,5-トリクロロフェノール、2,4-ジニトロフェノール、シアノメチルアルコ
ール、パラニトロフェノール、HONB、N-ヒドロキシスクシミド、N-ヒドロキシ
フタルイミド、HOBt）とのエステル〕などが用いられる。原料のアミノ基の活
性化されたものとしては、例えば、対応するリン酸アミドが用いられる。

保護基の除去（脱離）方法としては、例えば、Pd-黒あるいはPd-炭素な

- どの触媒の存在下での水素気流中での接触還元や、また、無水フッ化水素、メタンスルホン酸、トリフルオロメタンスルホン酸、トリフルオロ酢酸あるいはこれらの混合液などによる酸処理や、ジイソプロピルエチルアミン、トリエチルアミン、ピペリジン、ピペラジンなどによる塩基処理、また液体アンモニア
- 5 中ナトリウムによる還元なども用いられる。上記酸処理による脱離反応は、一般に約 -20°C ～ 40°C の温度で行なわれるが、酸処理においては、例えば、アニソール、フェノール、チオアニソール、メタクレゾール、パラクレゾール、ジメチルスルフィド、1,4-ブタンジチオール、1,2-エタンジチオールなどのようなカチオン捕捉剤の添加が有効である。また、ヒスチジンのイミダゾール保護基として用いられる2,4-ジニトロフェニル基はチオフェノール処理により
- 10 除去され、トリプトファンのインドール保護基として用いられるホルミル基は上記の1,2-エタンジチオール、1,4-ブタンジチオールなどの存在下の酸処理による脱保護以外に、希水酸化ナトリウム溶液、希アンモニアなどによるアルカリ処理によっても除去される。
- 15 原料の反応に関与すべきでない官能基の保護ならびに保護基、およびその保護基の脱離、反応に関与する官能基の活性化などは公知の基または公知の手段から適宜選択しうる。
- タンパク質のアミド体を得る別の方法としては、例えば、まず、カルボキシ末端アミノ酸の α -カルボキシル基をアミド化して保護した後、アミノ基側に
- 20 ペプチド（タンパク質）鎖を所望の鎖長まで延ばした後、該ペプチド鎖のN末端の α -アミノ基の保護基のみを除いたタンパク質とC末端のカルボキシル基の保護基のみを除去したタンパク質とを製造し、この両タンパク質を上記したような混合溶媒中で縮合させる。縮合反応の詳細については上記と同様である。縮合により得られた保護タンパク質を精製した後、上記方法によりすべての保護基を除去し、所望の粗タンパク質を得ることができる。この粗タンパク質は既知の各種精製手段を駆使して精製し、主要画分を凍結乾燥することで所望のタンパク質のアミド体を得ることができる。
- 25

タンパク質のエステル体を得るには、例えば、カルボキシ末端アミノ酸の α -カルボキシル基を所望のアルコール類と縮合しアミノ酸エステルとした後、

タンパク質のアミド体と同様にして、所望のタンパク質のエステル体を得ることができる。

本発明のタンパク質の部分ペプチドまたはその塩は、自体公知のペプチドの合成法に従って、あるいは本発明のタンパク質を適当なペプチダーゼで切断することによって製造することができる。ペプチドの合成法としては、例えば、固相合成法、液相合成法のいずれによっても良い。すなわち、本発明のタンパク質を構成し得る部分ペプチドもしくはアミノ酸と残余部分とを縮合させ、生成物が保護基を有する場合は保護基を脱離することにより目的のペプチドを製造することができる。公知の縮合方法や保護基の脱離としては、例えば、以下の①～⑤に記載された方法が挙げられる。

- ①M. Bodanszky および M.A. Ondetti、ペプチド シンセシス (Peptide Synthesis), Interscience Publishers, New York (1966年)
- ②SchroederおよびLuebke、ザ ペプチド (The Peptide), Academic Press, New York (1965年)
- ③泉屋信夫他、ペプチド合成の基礎と実験、丸善(株) (1975年)
- ④矢島治明 および榊原俊平、生化学実験講座 1、タンパク質の化学IV、205、(1977年)
- ⑤矢島治明監修、続医薬品の開発 第14巻 ペプチド合成 広川書店

また、反応後は通常の前製法、たとえば、溶媒抽出・蒸留・カラムクロマトグラフィー・液体クロマトグラフィー・再結晶などを組み合わせて本発明の部分ペプチドを精製単離することができる。上記方法で得られる部分ペプチドが遊離体である場合は、公知の方法によって適当な塩に変換することができるし、逆に塩で得られた場合は、公知の方法によって遊離体に変換することができる。

本発明のタンパク質をコードするDNAを用いて、例えば、公知の実験医学増刊「新PCRとその応用」15(7)、1997記載の方法またはそれに準じた方法により、本発明のタンパク質のmRNAを定量することができる。

本発明のタンパク質をコードするDNAとしては、ゲノムDNA、ゲノムDNAライブラリー、前記した細胞・組織由来のcDNA、前記した細胞・組織由来のcDNAライブラリー、合成DNAのいずれでもよい。ライブラリーに

使用するベクターは、バクテリオファージ、プラスミド、コスミド、ファージミドなどいずれであってもよい。また、前記した細胞・組織よりtotal RNAまたはmRNA画分を調製したものをを用いて直接Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction（以下、RT-PCR法と略称する）によって増幅
5 することもできる。

具体的には、本発明のタンパク質をコードするDNAとしては、例えば、配列番号：28または配列番号：29で表わされる塩基配列を含有するDNA、または配列番号：28または配列番号：29で表わされる塩基配列とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズする塩基配列を有し、本発明のタンパク質と実質的に同質の活性（例、ステロール（好ましくはコレステロール）結合活性など）を有するタンパク質をコードするDNAであれば何れのものでもよい。配列番号：28または配列番号：29で表わされる塩基配列とハイブリダイズできるDNAとしては、例えば、配列番号：28または配列番号：29で表わされる塩基配列と約70%以上、好ましくは約80%以上、より好ま
10 しくは約90%以上、最も好ましくは約95%以上の相同性を有する塩基配列を含有するDNAなどが用いられる。

ただし、本発明のタンパク質をコードするDNAには、配列番号：7で表わされる塩基配列に配列番号：39で表わされる塩基配列を挿入した塩基配列を有するDNA（ゲノミクス（Genomics），65，137-145，2000）は含まれない。
20

また、本発明のタンパク質をコードするDNAから、配列番号：42で表わされる塩基配列を有するDNAを除くのが好ましい。

ハイブリダイゼーションは、自体公知の方法あるいはそれに準じる方法、例えば、モレキュラー・クローニング（Molecular Cloning）2nd（J. Sambrook et al., Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989）に記載の方法などに従って
25 行なうことができる。また、市販のライブラリーを使用する場合、添付の使用説明書に記載の方法に従って行なうことができる。より好ましくは、ハイストリンジェントな条件に従って行なうことができる。

該ハイストリンジェントな条件とは、例えば、ナトリウム濃度が約19～4

0 mM、好ましくは約 19～20 mMで、温度が約 50～70℃、好ましくは約 60～65℃の条件を示す。特に、ナトリウム濃度が約 19 mMで温度が約 65℃の場合が最も好ましい。

より具体的には、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列を含有するタンパク質をコードするDNAとしては、配列番号：28で表わされる塩基配列などが用いられ、配列番号：16で表わされるアミノ酸配列を含有するタンパク質をコードするDNAとしては、配列番号：29で表わされる塩基配列を含有するDNAなどが用いられる。

また、配列番号：8で表わされるアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含有しないタンパク質をコードするDNAとしては、配列番号：28で表わされる塩基配列を含有し、配列番号：39で表わされる塩基配列を含有しないDNAなどが用いられる。

さらに、

(1) 配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第22番目～第1332番目のアミノ酸配列を含有するタンパク質をコードするDNAとしては、配列番号：7で表される塩基配列の第64番目～第3999番目の塩基配列を含有するDNAなどが用いられ、(2) 配列番号：9で表わされるアミノ酸配列を含有するタンパク質をコードするDNAとしては、配列番号：7で表わされる塩基配列を含有するDNAなどが用いられ、(3) 配列番号：17で表わされるアミノ酸配列を含有するタンパク質をコードするDNAとしては、配列番号：15で表わされる塩基配列を含有するDNAなどが用いられ、(4) 配列番号：34で表わされるアミノ酸配列を含有するタンパク質をコードするDNAとしては、配列番号：32で表わされる塩基配列を含有するDNAなどが用いられ、(5) 配列番号：35で表わされるアミノ酸配列を含有するタンパク質をコードするDNAとしては、配列番号：33で表わされる塩基配列を含有するDNAなどが用いられ、(6) 配列番号：40で表わされるアミノ酸配列を含有するタンパク質をコードするDNAとしては、配列番号：41で表わされる塩基配列を含有するDNAなどが用いられる。

本発明のタンパク質またはその部分ペプチド（以下、本発明のタンパク質と

略記する場合がある)を完全にコードするDNAのクローニングの手段としては、本発明のタンパク質の部分塩基配列を有する合成DNAプライマーを用いてPCR法によって増幅するか、または適当なベクターに組み込んだDNAを本発明のタンパク質の一部あるいは全領域をコードするDNA断片もしくは

5 合成DNAを用いて標識したもののハイブリダイゼーションによって選別することができる。ハイブリダイゼーションの方法は、例えば、モレキュラー・クローニング (Molecular Cloning) 2nd (J. Sambrook et al., Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989) に記載の方法などに従って行なうことができる。また、市販のライブラリーを使用する場合、添付の使用説明書に記載の方法に

10 従って行なうことができる。

DNAの塩基配列の変換は、公知のキット、例えば、MutanTM-G(宝酒造(株))、MutanTM-K(宝酒造(株))などを用いて、Gapped duplex法やKunkel法などの自体公知の方法あるいはそれらに準じる方法に従って行なうことができる。

クローン化されたタンパク質をコードするDNAは目的によりそのまま、または所望により制限酵素で消化したり、リンカーを付加したりして使用することができる。該DNAはその5'末端側に翻訳開始コドンとしてのATGを有し、また3'末端側には翻訳終止コドンとしてのTAA、TGAまたはTAGを有していてもよい。これらの翻訳開始コドンや翻訳終止コドンは、適当な合成DNAアダプターを用いて付加することもできる。

15

本発明のタンパク質の発現ベクターは、例えば、(イ)本発明のタンパク質をコードするDNAから目的とするDNA断片を切り出し、(ロ)該DNA断片を適当な発現ベクター中のプロモーターの下流に連結することにより製造することができる。

20

ベクターとしては、大腸菌由来のプラスミド(例、pBR322, pBR325, pUC12, pUC13)、枯草菌由来のプラスミド(例、pUB110, pTP5, pC194)、酵母由来プラスミド(例、pSH19, pSH15)、λファージなどのバクテリオファージ、レトロウイルス、ワクシニアウイルス、バキュロウイルスなどの動物ウイルスなどの他、pA1-11, pXT1, pRc/CMV, pRc/RSV, pcDNA1/Neoなどが用い

25

られる。

本発明で用いられるプロモーターとしては、遺伝子の発現に用いる宿主に対応して適切なプロモーターであればいかなるものでもよい。例えば、動物細胞を宿主として用いる場合は、SR α プロモーター、SV40プロモーター、LTRプロモーター、CMVプロモーター、HSV-TKプロモーターなどが挙げられる。

これらのうち、CMVプロモーター、SR α プロモーターなどを用いるのが好ましい。宿主がエシェリヒア属菌である場合は、trpプロモーター、lacプロモーター、recAプロモーター、 λ P_Lプロモーター、lppプロモーターなどが、宿主がバチルス属菌である場合は、SPO1プロモーター、SPO2プロモーター、penPプロモーターなど、宿主が酵母である場合は、PHO5プロモーター、PGKプロモーター、GAPプロモーター、ADHプロモーターなどが好ましい。宿主が昆虫細胞である場合は、ポリヘドリンプロモーター、P10プロモーターなどが好ましい。

発現ベクターには、以上の他に、所望によりエンハンサー、スプライシングシグナル、ポリA付加シグナル、選択マーカー、SV40複製オリジン（以下、SV40oriと略称する場合がある）などを含有しているものを用いることができる。選択マーカーとしては、例えば、ジヒドロ葉酸還元酵素（以下、dhfrと略称する場合がある）遺伝子〔メソトレキセート（MTX）耐性〕、アンピシリン耐性遺伝子（以下、Amp^rと略称する場合がある）、ネオマイシン耐性遺伝子（以下、Neo^rと略称する場合がある、G418耐性）等が挙げられる。特に、CHO（dhfr⁻）細胞を用いてdhfr遺伝子を選択マーカーとして使用する場合、目的遺伝子をチミジンを含まない培地によっても選択できる。

また、必要に応じて、宿主に合ったシグナル配列を、本発明のタンパク質のN端末側に付加する。宿主がエシェリヒア属菌である場合は、PhoA・シグナル配列、OmpA・シグナル配列などが、宿主がバチルス属菌である場合は、 α -アミラーゼ・シグナル配列、サブチリシン・シグナル配列などが、宿主が酵母である場合は、MF α ・シグナル配列、SUC2・シグナル配列など、宿主

が動物細胞である場合には、インシュリン・シグナル配列、 α -インターフェロン・シグナル配列、抗体分子・シグナル配列などがそれぞれ利用できる。

このようにして構築された本発明のタンパク質をコードするDNAを含有するベクターを用いて、形質転換体を製造することができる。

- 5 宿主としては、例えば、エシェリヒア属菌、バチルス属菌、酵母、昆虫細胞、昆虫、動物細胞などが用いられる。

- エシェリヒア属菌の具体例としては、エシェリヒア・コリ (*Escherichia coli*) K12・DH1 [プロシーディングズ・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンシイズ・オブ・ザ・ユーエスエー (Proc. Natl. Acad. Sci. USA), 60巻, 160(1968)], JM103 [ヌクイレック・アシッ
10 プ・リサーチ, (Nucleic Acids Research), 9巻, 309(1981)], JA221 [ジャーナル・オブ・モレキュラー・バイオロジー (Journal of Molecular Biology)], 120巻, 517(1978)], HB101 [ジャーナル・オブ・モレキュラー・バイオロジー, 41巻, 459(1969)],
15 C600 [ジェネティックス (Genetics), 39巻, 440(1954)] などが用いられる。

- バチルス属菌としては、例えば、バチルス・ズブチルス (*Bacillus subtilis*) MI114 [ジーン, 24巻, 255(1983)], 207-21 [ジャーナル・オブ・バイオケミストリー (Journal of Biochemistry), 95巻, 87(1
20 984)] などが用いられる。

- 酵母としては、例えば、サッカロマイセス セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) AH22, AH22R⁻, NA87-11A, DKD-5D, 20B-12、シゾサッカロマイセス ポンベ (*Schizosaccharomyces pombe*) NCYC1913, NCYC2036、ピキア パストリス (*Pichia pastoris*)
25 などが用いられる。

昆虫細胞としては、例えば、ウイルスがAcNPVの場合は、夜盗蛾の幼虫由来株化細胞 (*Spodoptera frugiperda* cell; Sf細胞)、*Trichoplusia ni*の中腸由来のMG1細胞、*Trichoplusia ni*の卵由来のHigh FiveTM細胞、*Mamestra brassicae*由来の細胞または*Estigmena acrea*由来の細胞などが用い

られる。ウイルスがBmNPVの場合は、蚕由来株化細胞 (Bombyx mori N; BmN細胞)などが用いられる。該Sf細胞としては、例えば、Sf9細胞(ATCC CRL1711)、Sf21細胞(以上、Vaughn, J.L.ら、イン・ヴィボ(In Vivo), 13, 213-217, (1977))などが用いられる。

- 5 昆虫としては、例えば、カイコの幼虫などが用いられる〔前田ら、ネイチャー (Nature), 315巻, 592(1985)]。

動物細胞としては、例えば、サル細胞COS-7, Vero, チャイニーズハムスター細胞CHO(以下、CHO細胞と略記), dhfr遺伝子欠損チャイニーズハムスター細胞CHO(以下、CHO(dhfr-)細胞と略記), マウスL細胞, マウスAtT-20, マウスミエローマ細胞, ラットGH3, ヒトFL細胞などが用いられる。

- 10 エシェリヒア属菌を形質転換するには、例えば、プロシーディングズ・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンシイズ・オブ・ザ・ユーエスエー (Proc. Natl. Acad. Sci. USA), 69巻, 2110(1972)やジーン (Gene), 17巻, 107(1982)などに記載の方法に従って行なうことができる。

バチルス属菌を形質転換するには、例えば、モレキュラー・アンド・ジェネラル・ジェネティックス (Molecular & General Genetics), 168巻, 111(1979)などに記載の方法に従って行なうことができる。

- 20 酵母を形質転換するには、例えば、メソーズ・イン・エンザイモロジー (Methods in Enzymology), 194巻, 182-187(1991)、プロシーディングズ・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンシイズ・オブ・ザ・ユーエスエー (Proc. Natl. Acad. Sci. USA), 75巻, 1929(1978)などに記載の方法に従って行なうことができる。

- 25 昆虫細胞または昆虫を形質転換するには、例えば、バイオテクノロジー (Bio/Technology), 6, 47-55(1988)などに記載の方法に従って行なうことができる。

動物細胞を形質転換するには、例えば、細胞工学別冊8新細胞工学実験プロトコル, 263-267(1995)(秀潤社発行)、ヴィロロジー (Virology),

5 2 巻, 4 5 6 (1 9 7 3) に記載の方法に従って行なうことができる。

このようにして、タンパク質をコードする DNA を含有する発現ベクターで形質転換された形質転換体を得られる。

- 宿主がエシェリヒア属菌、バチルス属菌である形質転換体を培養する際、培養に使用される培地としては液体培地が適当であり、その中には該形質転換体の生育に必要な炭素源、窒素源、無機物その他が含有せしめられる。炭素源としては、例えば、グルコース、デキストリン、可溶性澱粉、ショ糖など、窒素源としては、例えば、アンモニウム塩類、硝酸塩類、コーンスチープ・リカー、ペプトン、カゼイン、肉エキス、大豆粕、パレイショ抽出液などの無機または
- 10 有機物質、無機物としては、例えば、塩化カルシウム、リン酸二水素ナトリウム、塩化マグネシウムなどが挙げられる。また、酵母エキス、ビタミン類、生長促進因子などを添加してもよい。培地の pH は約 5 ～ 8 が望ましい。

- エシェリヒア属菌を培養する際の培地としては、例えば、グルコース、カザミノ酸を含む M 9 培地 [ミラー (Miller), ジャーナル・オブ・エクスペリメンツ・イン・モレキュラー・ジェネティックス (Journal of Experiments in
- 15 Molecular Genetics), 4 3 1 - 4 3 3, Cold Spring Harbor Laboratory, New York 1 9 7 2] が好ましい。ここに必要によりプロモーターを効率よく働かせるために、例えば、3 β - インドリル アクリル酸のような薬剤を加えることができる。

- 20 宿主がエシェリヒア属菌の場合、培養は通常約 1 5 ～ 4 3 °C で約 3 ～ 2 4 時間行ない、必要により、通気や攪拌を加えることもできる。

宿主がバチルス属菌の場合、培養は通常約 3 0 ～ 4 0 °C で約 6 ～ 2 4 時間行ない、必要により通気や攪拌を加えることもできる。

- 宿主が酵母である形質転換体を培養する際、培地としては、例えば、パークホルダー (Burkholder) 最小培地 [Bostian, K. L. ら、「プロシーディングズ・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンシズ・オブ・ザ・ユーエスエー (Proc. Natl. Acad. Sci. USA), 7 7 巻, 4 5 0 5 (1 9 8 0)] や 0. 5 % カザミノ酸を含有する SD 培地 [Bitter, G. A. ら、「プロシーディングズ・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンシズ・オ
- 25

ブ・ザ・ユーエスエー (Proc. Natl. Acad. Sci. U S A) , 81 巻, 5330 (1984)] が挙げられる。培地の pH は約 5 ~ 8 に調整するのが好ましい。培養は通常約 20℃ ~ 35℃ で約 24 ~ 72 時間行ない、必要に応じて通気や攪拌を加える。

- 5 宿主が昆虫細胞または昆虫である形質転換体を培養する際、培地としては、Grace's Insect Medium (Grace, T. C. C., ネイチャー (Nature) , 195, 788 (1962)) に非動化した 10 % ウシ血清等の添加物を適宜加えたものなどが用いられる。培地の pH は約 6.2 ~ 6.4 に調整するのが好ましい。培養は通常約 27℃ で約 3 ~ 5 日間行ない、必要に応じて通気や攪拌を加える。
- 10 宿主が動物細胞である形質転換体を培養する際、培地としては、例えば、約 5 ~ 20 % の胎児牛血清を含む MEM 培地 [サイエンス (Science) , 122 巻, 501 (1952)] , DMEM 培地 [ヴィロロジー (Virology) , 8 巻, 396 (1959)] , RPMI 1640 培地 [ジャーナル・オブ・ザ・アメリカン・メディカル・アソシエーション (The Journal of the American Medical Association) 199 巻, 519 (1967)] , 199 培地 [プロシーディング・オブ・ザ・ソサイエティ・フォー・ザ・バイオロジカル・メディシン (Proceeding of the Society for the Biological Medicine) , 73 巻, 1 (1950)] などが用いられる。pH は約 6 ~ 8 であるのが好ましい。培養は通常約 30℃ ~ 40℃ で約 15 ~ 60 時間行ない、必要に応じて通気や攪拌を加える。
- 15 以上のようにして、形質転換体の細胞内、形質膜または細胞外に本発明のタンパク質を生成せしめることができる。

上記培養物から本発明のタンパク質を分離精製するには、例えば、下記の方法により行なうことができる。

- 25 本発明のタンパク質を培養菌体あるいは細胞から抽出するに際しては、培養後、公知の方法で菌体あるいは細胞を集め、これを適当な緩衝液に懸濁し、超音波、リゾチームおよび／または凍結融解などによって菌体あるいは細胞を破壊したのち、遠心分離やろ過によりタンパク質の粗抽出液を得る方法などが適宜用いられる。緩衝液の中に尿素や塩酸グアニジンなどの蛋白質変性剤や、トリトン X-100TM などの界面活性剤が含まれていてもよい。培養液中にタ

ンパク質が分泌される場合には、培養終了後、それ自体公知の方法で菌体あるいは細胞と上清とを分離し、上清を集める。

このようにして得られた培養上清、あるいは抽出液中に含まれるタンパク質の精製は、自体公知の分離・精製法を適切に組み合わせて行なうことができる。

- 5 これらの公知の分離、精製法としては、塩析や溶媒沈澱法などの溶解度を利用する方法、透析法、限外ろ過法、ゲルろ過法、およびSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法などの主として分子量の差を利用する方法、イオン交換クロマトグラフィーなどの荷電の差を利用する方法、アフィニティークロマトグラフィーなどの特異的新和性を利用する方法、逆相高速液体クロマトグラフィーなどの疎水性の差を利用する方法、等電点電気泳動法などの等電点の差を利用する方法などが用いられる。

- 10 かくして得られるタンパク質が遊離体で得られた場合には、自体公知の方法あるいはそれに準じる方法によって塩に変換することができ、逆に塩で得られた場合には自体公知の方法あるいはそれに準じる方法により、遊離体または他の塩に変換することができる。

- 20 なお、組換え体が産生するタンパク質を、精製前または精製後に適当な蛋白修飾酵素を作用させることにより、任意に修飾を加えたり、ポリペプチドを部分的に除去することもできる。蛋白修飾酵素としては、例えば、トリプシン、キモトリプシン、アルギニルエンドペプチダーゼ、プロテインキナーゼ、グリコシダーゼなどが用いられる。

かくして生成する本発明のタンパク質またはその塩の活性は、標識したステロール（好ましくはコレステロール）との結合実験および特異抗体を用いたエンザイムイムノアッセイなどにより測定することができる。

- 25 本発明のタンパク質またはその塩に対する抗体は、本発明のタンパク質またはその塩を認識し得る抗体であれば、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体の何れであってもよい。

本発明のタンパク質またはその塩（以下、本発明のタンパク質と略記する場合がある）に対する抗体は、本発明のタンパク質を抗原として用い、自体公知の抗体または抗血清の製造法に従って製造することができる。

〔モノクローナル抗体の作製〕

(a) モノクローナル抗体産生細胞の作製

- 本発明のタンパク質は、哺乳動物に対して投与により抗体産生が可能な部位にそれ自体あるいは担体、希釈剤とともに投与される。投与に際して抗体産生能を高めるため、完全フロイントアジュバントや不完全フロイントアジュバントを投与してもよい。投与は通常2～6週毎に1回ずつ、計2～10回程度行なわれる。用いられる哺乳動物としては、例えば、サル、ウサギ、イヌ、モルモット、マウス、ラット、ヒツジ、ヤギが挙げられるが、マウスおよびラットが好ましく用いられる。
- 10 モノクローナル抗体産生細胞の作製に際しては、抗原を免疫された温血動物、例えば、マウスから抗体価の認められた個体を選択し最終免疫の2～5日後に脾臓またはリンパ節を採取し、それらに含まれる抗体産生細胞を骨髓腫細胞と融合させることにより、モノクローナル抗体産生ハイブリドーマを調製することができる。抗血清中の抗体価の測定は、例えば、後記の標識化タンパク質と
- 15 抗血清とを反応させたのち、抗体に結合した標識剤の活性を測定することにより行なうことができる。融合操作は既知の方法、例えば、ケーラーとミルスタインの方法〔ネイチャー (Nature)、256巻、495頁(1975年)〕に従い実施することができる。融合促進剤としては、例えば、ポリエチレングリコール (PEG) やセンダイウィルスなどが挙げられるが、好ましくはPEG
- 20 が用いられる。
- 骨髓腫細胞としては、例えば、NS-1、P3U1、SP2/0などが挙げられるが、P3U1が好ましく用いられる。用いられる抗体産生細胞(脾臓細胞)数と骨髓腫細胞数との好ましい比率は1:1～20:1程度であり、PEG(好ましくは、PEG1000～PEG6000)が10～80%程度の濃度で添加され、約20～40℃、好ましくは約30～37℃で約1～10分間
- 25 インキュベートすることにより効率よく細胞融合を実施できる。

モノクローナル抗体産生ハイブリドーマのスクリーニングには種々の方法が使用できるが、例えば、タンパク質の抗原を直接あるいは担体とともに吸着させた固相(例、マイクロプレート)にハイブリドーマ培養上清を添加し、次

- に放射性物質や酵素などで標識した抗免疫グロブリン抗体（細胞融合に用いられる細胞がマウスの場合、抗マウス免疫グロブリン抗体が用いられる）またはプロテインAを加え、固相に結合したモノクローナル抗体を検出する方法、抗免疫グロブリン抗体またはプロテインAを吸着させた固相にハイブリドーマ
- 5 培養上清を添加し、放射性物質や酵素などで標識したタンパク質を加え、固相に結合したモノクローナル抗体を検出する方法などが挙げられる。

- モノクローナル抗体の選別は、自体公知あるいはそれに準じる方法に従って行なうことができるが、通常はHAT（ヒポキサンチン、アミノプテリン、チミジン）を添加した動物細胞用培地などで行なうことができる。選別および育
- 10 種用培地としては、ハイブリドーマが生育できるものならばどのような培地を用いても良い。例えば、1～20%、好ましくは10～20%の牛胎児血清を含むRPMI 1640培地、1～10%の牛胎児血清を含むGIT培地（和光純薬工業（株））またはハイブリドーマ培養用無血清培地（SFM-101、日水製薬（株））などを用いることができる。培養温度は、通常20～40℃、
- 15 好ましくは約37℃である。培養時間は、通常5日～3週間、好ましくは1週間～2週間である。培養は、通常5%炭酸ガス下で行なうことができる。ハイブリドーマ培養上清の抗体価は、上記の抗血清中の抗体価の測定と同様にして測定できる。

（b）モノクローナル抗体の精製

- 20 モノクローナル抗体の分離精製は、通常のポリクローナル抗体の分離精製と同様に免疫グロブリンの分離精製法〔例、塩析法、アルコール沈殿法、等電点沈殿法、電気泳動法、イオン交換体（例、DEAE）による吸脱着法、超遠心法、ゲルろ過法、抗原結合固相またはプロテインAあるいはプロテインGなどの活性吸着剤により抗体のみを採取し、結合を解離させて抗体を得る特異的精
- 25 製法〕に従って行なうことができる。

〔ポリクローナル抗体の作製〕

本発明のポリクローナル抗体は、それ自体公知あるいはそれに準じる方法にしたがって製造することができる。例えば、免疫抗原（タンパク質の抗原）とキャリアー蛋白質との複合体をつくり、上記のモノクローナル抗体の製造法と

同様に哺乳動物に免疫を行ない、該免疫動物から本発明のタンパク質に対する抗体含有物を採取して、抗体の分離精製を行なうことにより製造できる。

哺乳動物を免疫するために用いられる免疫抗原とキャリアー蛋白質との複合体に関し、キャリアー蛋白質の種類およびキャリアーとハプテンとの混合比は、キャリアーに架橋させて免疫したハプテンに対して抗体が効率良くできれば、5 どの様なものをどの様な比率で架橋させてもよいが、例えば、ウシ血清アルブミン、ウシサイログロブリン、キーホール・リンペット・ヘモシアニン等を重量比でハプテン1に対し、約0.1～20、好ましくは約1～5の割合でカプルさせる方法が用いられる。

10 また、ハプテンとキャリアーのカプリングには、種々の縮合剤を用いることができるが、グルタルアルデヒドやカルボジイミド、マレイミド活性エステル、チオール基、ジチオビリジル基を含有する活性エステル試薬等が用いられる。

縮合生成物は、温血動物に対して、抗体産生が可能な部位にそれ自体あるいは担体、希釈剤とともに投与される。投与に際して抗体産生能を高めるため、15 完全フロイントアジュバントや不完全フロイントアジュバントを投与してもよい。投与は、通常約2～6週毎に1回ずつ、計約3～10回程度行なうことができる。

ポリクローナル抗体は、上記の方法で免疫された哺乳動物の血液、腹水など、好ましくは血液から採取することができる。

20 抗血清中のポリクローナル抗体価の測定は、上記の血清中の抗体価の測定と同様にして測定できる。ポリクローナル抗体の分離精製は、上記のモノクローナル抗体の分離精製と同様の免疫グロブリンの分離精製法に従って行なうことができる。

本発明に従えば、タンパク質遺伝子の複製又は発現を阻害することのできる25 アンチセンスポリヌクレオチドを、クローン化したあるいは決定されたタンパク質をコードするDNAの塩基配列情報に基づき設計し、合成しうる。そうしたポリペプチドは、タンパク質遺伝子のmRNAとハイブリダイズすることができ、該RNAの合成又は機能を阻害することができるか、あるいはタンパク質をコードするRNAとの相互作用を介してタンパク質遺伝子の発現を調

節・制御することができる。タンパク質をコードするRNAの選択された配列に相補的なDNA、及びタンパク質をコードするRNAと特異的にハイブリダイズすることができるDNAは、生体内及び生体外でタンパク質遺伝子の発現を調節・制御するのに有用であり、また病気などの治療又は診断に有用である。

- 5 「対応する」とは、遺伝子を含めたヌクレオチド又は核酸の特定の配列に相同性を有するあるいは相補的であることを意味する。ヌクレオチド又は核酸とペプチドまたはタンパク質との間で「対応する」とは、ヌクレオチド（核酸）の配列又はその相補体から誘導される指令にあるペプチド（蛋白質）のアミノ酸を通常指している。タンパク質遺伝子の5'端ヘアピンループ、5'端6-ベースペア・リピート、5'端非翻訳領域、ポリペプチド翻訳開始コドン、蛋白質コード領域、ORF翻訳開始コドン、3'端非翻訳領域、3'端パンドローム領域、及び3'端ヘアピンループは好ましい対象領域として選択しうるが、
- 10 タンパク質遺伝子内の如何なる領域も対象として選択しうる。

- 目的核酸と、対象領域の少なくとも一部に相補的なポリヌクレオチド、例えば、対象物とハイブリダイズすることができるポリヌクレオチド、「アンチセンス」であるということができる。アンチセンス・ポリヌクレオチドは、2-デオキシ-D-リボースを含有しているポリデオキシヌクレオチド、D-リボースを含有しているポリデオキシヌクレオチド、プリン又はピリミジン塩基のN-グリコシドであるその他のタイプのポリヌクレオチド、あるいは非ヌクレ
- 15 オチド骨格を有するその他のポリマー（例えば、市販の蛋白質核酸及び合成配列特異的な核酸ポリマー）又は特殊な結合を含有するその他のポリマー（但し、該ポリマーはDNAやRNA中に見出されるような塩基のペアリングや塩基の付着を許容する配置をもつヌクレオチドを含有する）などが挙げられる。それらは、2本鎖DNA、1本鎖DNA、2本鎖RNA、1本鎖RNA、さらに
- 20 DNA:RNAハイブリッドであることができ、さらに非修飾ポリヌクレオチド（又は非修飾オリゴヌクレオチド）、さらには公知の修飾の付加されたもの、例えば当該分野で知られた標識のあるもの、キャップの付いたもの、メチル化されたもの、1個以上の天然のヌクレオチドを類縁物で置換したもの、分子内ヌクレオチド修飾のされたもの、例えば非荷電結合（例えば、メチルホスホネ

ート、ホスホトリエステル、ホスホルアミデート、カルバメートなど）を持つもの、電荷を有する結合又は硫黄含有結合（例えば、ホスホロチオエート、ホスホロジチオエートなど）を持つもの、例えば蛋白質（ヌクレアーゼ、ヌクレアーゼ・インヒビター、トキシン、抗体、シグナルペプチド、ポリーラーリジンなど）や糖（例えば、モノサッカライドなど）などの側鎖基を有しているもの、インターカレント化合物（例えば、アクリジン、プソラレンなど）を持つもの、キレート化合物（例えば、金属、放射活性をもつ金属、ホウ素、酸化性の金属など）を含有するもの、アルキル化剤を含有するもの、修飾された結合を持つもの（例えば、 α アノマー型の核酸など）であってもよい。ここで「ヌクレオシド」、「ヌクレオチド」及び「核酸」とは、プリン及びピリミジン塩基を含有するのみでなく、修飾されたその他の複素環型塩基をもつようなものを含んでいて良い。こうした修飾物は、メチル化されたプリン及びピリミジン、アシル化されたプリン及びピリミジン、あるいはその他の複素環を含むものであってよい。修飾されたヌクレオチド及び修飾されたヌクレオチドはまた糖部分が修飾されていてよく、例えば1個以上の水酸基がハロゲンとか、脂肪族基などで置換されていたり、あるいはエーテル、アミンなどの官能基に変換されていてよい。

本発明のアンチセンス・ポリヌクレオチド（核酸）は、RNA、DNA、あるいは修飾された核酸（RNA、DNA）である。修飾された核酸の具体例としては核酸の硫黄誘導体やチオホスフェート誘導体、そしてポリヌクレオシドアミドやオリゴヌクレオシドアミドの分解に抵抗性のものが挙げられるが、それに限定されるものではない。本発明のアンチセンス核酸は次のような方針で好ましく設計されうる。すなわち、細胞内でのアンチセンス核酸をより安定なものにする、アンチセンス核酸の細胞透過性をより高める、目標とするセンス鎖に対する親和性をより大きなものにする、そしてもし毒性があるならアンチセンス核酸の毒性をより小さなものにする。

こうして修飾は当該分野で数多く知られており。例えば J. Kawakami et al., Pharm Tech Japan, Vol. 8, pp.247, 1992; Vol. 8, pp.395, 1992; S. T. Crooke et al. ed., Antisense Research and Applications, CRC Press, 1993 など

に開示がある。

本発明のアンチセンス核酸は、変化せしめられたり、修飾された糖、塩基、結合を含有していて良く、リボゾーム、ミクロスフェアのような特殊な形態で供与されたり、遺伝子治療により適用されたり、付加された形態で与えられることができる。こうして付加形態で用いられるものとしては、リン酸基骨格の電荷を中和するように働くポリリジンのようなポリカチオン体、細胞膜との相互作用を高めたり、核酸の取込みを増大せしめるような脂質（例えば、ホスホリピド、コレステロールなど）といった粗水性のものが挙げられる。付加するに好ましい脂質としては、コレステロールやその誘導体（例えば、コレステリルクロロホルメート、コール酸など）が挙げられる。こうしたものは、核酸の3'端あるいは5'端に付着させることができ、塩基、糖、分子内ヌクレオシド結合を介して付着させることができる。その他の基としては、核酸の3'端あるいは5'端に特異的に配置されたキャップ用の基で、エキソヌクレアーゼ、RNaseなどのヌクレアーゼによる分解を阻止するためのものが挙げられる。こうしたキャップ用の基としては、ポリエチレングリコール、テトラエチレングリコールなどのグリコールをはじめとした当該分野で知られた水酸基の保護基が挙げられるが、それに限定されるものではない。

本発明のDNAに実質的に相補的な塩基配列とは、例えば、本発明のDNAに相補的な塩基配列（すなわち、本発明のDNAの相補鎖）の全塩基配列あるいは部分塩基配列と約70%以上、好ましくは約80%以上、より好ましくは約90%以上、最も好ましくは約95%以上の相同性を有する塩基配列等が挙げられる。特に、本発明のDNAの相補鎖の全塩基配列うち、本発明のポリペプチドのN末端部位をコードする部分の塩基配列（例えば、開始コドン付近の塩基配列等）の相補鎖と約70%以上、好ましくは約80%以上、より好ましくは約90%以上、最も好ましくは約95%以上の相同性を有するアンチセンスDNAが好適である。これらのアンチセンスDNAは、公知のDNA合成装置等を用いて製造することができる。

アンチセンス核酸の阻害活性は、本発明の形質転換体、本発明の生体内や生体外の遺伝子発現系、あるいはタンパク質の生体内や生体外の翻訳系を用いて

調べることができる。該核酸それ自体公知の各種の方法で細胞に適用できる。

本発明のタンパク質（配列番号：9 で表わされるアミノ酸配列に配列番号：38 で表わされるアミノ酸配列が挿入されたアミノ酸配列を含むタンパク質も含む）および該タンパク質をコードするDNAは、

- 5 (1) 本発明のタンパク質の機能不全に関連する疾患の予防および／または治療剤、
 (2) 遺伝子診断剤、
 (3) 本発明のタンパク質の発現量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、
- 10 (4) 本発明のタンパク質の発現量を変化させる化合物またはその塩を含有する各種疾病の予防および／または治療剤、
 (5) 本発明のタンパク質のステロール感知能を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、
 (6) 本発明のタンパク質のステロール感知能を変化させる化合物またはその塩を含有する各種疾病の予防および／または治療剤、
- 15 (7) 本発明のタンパク質の定量、
 (8) 本発明のタンパク質に対する抗体による中和、
 (9) 本発明のタンパク質をコードするDNAを有する非ヒト動物の作製などに用いることができる。
- 20 特に、本発明の組換え型タンパク質の発現系を用いたスクリーニング法を用いることによって、本発明のタンパク質のステロール感知能を変化させる化合物またはその塩（以下、化合物と略記することがある）をスクリーニングすることができ、該化合物を各種疾病の予防・治療剤などとして使用することができる。
- 25 本発明のタンパク質をコードするDNA（以下、本発明のDNAと略記する場合がある）および本発明のタンパク質に対する抗体（以下、本発明の抗体と略記する場合がある）の用途について、以下に具体的に説明する。
 (1) 本発明のタンパク質の機能不全に関連する疾患の予防および／または治療剤

①本発明のタンパク質または②該タンパク質をコードするDNAを、本発明のタンパク質の機能不全に関連する疾患の予防および／または治療剤などの医薬として使用することができる。

- 例えば、生体内において本発明のタンパク質が減少しているためにステロールを感知することが期待できない（該タンパク質の欠乏症）患者がいる場合に、
- 5 ①本発明のタンパク質を該患者に投与し該タンパク質の量を補充したり、②（イ）本発明のタンパク質をコードするDNAを該患者に投与し発現させることによって、あるいは（ロ）対象となる細胞に本発明のタンパク質をコードするDNAを挿入し発現させた後に、該細胞を該患者に移植することなどによって、患者の体内におけるタンパク質の量を増加させ、該タンパク質の作用を充分に発揮させることができる。即ち、本発明のタンパク質をコードするDNA
- 10 は、安全で低毒性な本発明のタンパク質の機能不全に関連する疾患の予防および／または治療剤として有用である。

- 本発明のタンパク質は、ニーマンピックタイプC症の原因遺伝子とされるN
- 15 P C 1 および発生・分化のシグナル分子とされるPatched及びコレステロール生合成系の律速酵素であるHMG-CoA Reductaseおよび脂肪酸合成系、コレステロール合成系、およびそれらの異化代謝系を支配する主要な転写調節物質であるSCAPの配列と約20%以上のホモロジーを有する部分配列を含有しており、また上記4種のタンパクの中で、この部分配列にホモロジーを有する配列は
- 20 SSD配列と考えられている。[Current Opinion in Structural Biology, 8, 435-439 (1998)]。このことから、本発明のタンパク質は上記4種と同様に、ステロール濃度を感知する機能を有していることが予想され、すなわち、高脂血症、動脈硬化などの脂質代謝性疾患の予防および／または治療に有用である。また、本発明のタンパク質と40%以上のホモロジーを有するNPC1の機能とし
- 25 ては、細胞内の脂質輸送を制御することが提唱されている[Current Opinion in Lipidology, 9, 131-135 (1998)]。従って、NPC1と相同性が認められる本発明のタンパク質は、細胞内の脂質輸送を制御することが予想され、各種の脂質代謝異常症、循環器疾患、中枢性疾患、呼吸器疾患、消化器疾患・肝/胆/膵疾患・内分泌疾患の予防および／または治療に有用である。

本発明のタンパク質を上記予防・治療剤として使用する場合は、常套手段に従って製剤化することができる。

一方、本発明のタンパク質をコードするDNA（以下、本発明のDNAと略記する場合がある）を上記予防・治療剤として使用する場合は、本発明のDNA
5 Aを単独あるいはレトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノウイルスアソシエートドウイルスベクターなどの適当なベクターに挿入した後、常套手段に従って実施することができる。本発明のDNAは、そのまま、あるいは摂取促進のための補助剤とともに、遺伝子銃やハイドロゲルカテーテルのようなカテーテルによって投与できる。

10 例えば、本発明のタンパク質または本発明のDNAは、必要に応じて糖衣を施した錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、マイクロカプセル剤などとして経口的に、あるいは水もしくはそれ以外の薬学的に許容し得る液との無菌性溶液、または懸濁液剤などの注射剤の形で非経口的に使用できる。例えば、本発明のタンパク質または本発明のDNAを生理学的に認められる公知の担体、香味剤、
15 賦形剤、ベヒクル、防腐剤、安定剤、結合剤などとともに一般に認められた製剤実施に要求される単位用量形態で混和することによって製造することができる。これら製剤における有効成分量は指示された範囲の適当な用量が得られるようにするものである。

錠剤、カプセル剤などに混和することができる添加剤としては、例えばゼラ
20 チン、コーンスターチ、トラガント、アラビアゴムのような結合剤、結晶性セルロースのような賦形剤、コーンスターチ、ゼラチン、アルギン酸などのような膨化剤、ステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤、ショ糖、乳糖またはサッカリンのような甘味剤、ペパーミント、アカモノ油またはチェリーのような香味剤などが用いられる。調剤単位形態がカプセルである場合には、上記タイ
25 プの材料にさらに油脂のような液状担体を含有することができる。注射のための無菌組成物は注射用水のようなベヒクル中の活性物質、胡麻油、椰子油などのような天然産出植物油などを溶解または懸濁させるなどの通常の製剤実施に従って処方することができる。注射用の水性液としては、例えば、生理食塩水、ブドウ糖やその他の補助薬を含む等張液（例えば、D-ソルビトール、D

ーマンニトール、塩化ナトリウムなど)などが用いられ、適当な溶解補助剤、例えば、アルコール(例、エタノール)、ポリアルコール(例、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール)、非イオン性界面活性剤(例、ポリソルベート 80TM、HCO-50)などと併用してもよい。油性液としては、例
5 えば、ゴマ油、大豆油などが用いられ、溶解補助剤である安息香酸ベンジル、ベンジルアルコールなどと併用してもよい。

また、上記予防・治療剤は、例えば、緩衝剤(例えば、リン酸塩緩衝液、酢酸ナトリウム緩衝液)、無痛化剤(例えば、塩化ベンザルコニウム、塩酸プロカインなど)、安定剤(例えば、ヒト血清アルブミン、ポリエチレングリコール
10 ルなど)、保存剤(例えば、ベンジルアルコール、フェノールなど)、酸化防止剤などと配合してもよい。調製された注射液は通常、適当なアンプルに充填される。

このようにして得られる製剤は安全で低毒性であるので、例えば、ヒトや哺乳動物(例えば、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、
15 サルなど)に対して投与することができる。

本発明のタンパク質の投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法などにより差異はあるが、経口投与の場合、一般的に例えば、高脂血症患者(60 kgとして)においては、一日につき約0.1 mg~100 mg、好ましくは約1.0~50 mg、より好ましくは約1.0~20 mgである。非経口的に
20 投与する場合は、その1回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによっても異なるが、例えば、注射剤の形では通常例えば、高脂血症患者(60 kgとして)においては、一日につき約0.01~30 mg程度、好ましくは約0.1~20 mg程度、より好ましくは約0.1~10 mg程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、60 kgあたりに換
25 算した量を投与することができる。

本発明のDNAの投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法などにより差異はあるが、経口投与の場合、一般的に例えば、高脂血症患者(60 kgとして)においては、一日につき約0.1 mg~100 mg、好ましくは約1.0~50 mg、より好ましくは約1.0~20 mgである。非経口的に投与す

る場合は、その1回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによっても異なるが、例えば、注射剤の形では通常例えば、高脂血症患者（60 kg として）においては、一日につき約0.01～30 mg 程度、好ましくは約0.1～20 mg 程度、より好ましくは約0.1～10 mg 程度を静脈注射により
5 投与するのが好都合である。他の動物の場合も、60 kg 当りに換算した量を投与することができる。

(2) 遺伝子診断剤

本発明のDNAは、プローブとして使用することにより、ヒトまたは哺乳動物（例えば、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど）における本発明のタンパク質またはその部分ペプチドをコードするDNAまたはmRNAの異常（遺伝子異常）を検出することができるので、例えば、該DNAまたはmRNAの損傷、突然変異あるいは発現低下や、該DNAまたはmRNAの増加あるいは発現過多などの遺伝子診断剤として有用である。
10

本発明のDNAを用いる上記の遺伝子診断は、例えば、自体公知のノーザンハイブリダイゼーションやPCR-SSCP法（ゲノミックス (Genomics) , 第5巻, 874～879頁（1989年）、プロシーディングズ・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンシズ・オブ・ユーエスエー (Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America) ,
15 第86巻, 2766～2770頁（1989年））などにより実施することができる。

(3) 本発明のタンパク質またはその部分ペプチドの発現量を変化させる化合物のスクリーニング方法

本発明のDNAは、プローブとして用いることにより、本発明のタンパク質またはその部分ペプチドの発現量を変化させる化合物のスクリーニングに用
25 いることができる。

すなわち本発明は、例えば、(i) 非ヒト哺乳動物の①血液、②特定の臓器、③臓器から単離した組織もしくは細胞、または(ii) 形質転換体等に含まれる本発明のタンパク質またはその部分ペプチドのmRNA量を測定することに

よる、本発明のタンパク質またはその部分ペプチドの発現量を変化させる化合物のスクリーニング方法を提供する。

本発明のタンパク質のmRNA量の測定は具体的には以下のようにして行なう。

- 5 (i) 正常あるいは疾患モデル非ヒト哺乳動物（例えば、マウス、ラット、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど、より具体的には痴呆ラット、肥満マウス、動脈硬化ウサギ、担癌マウスなど）に対して、薬剤（例えば、抗痴呆薬、血圧低下薬、抗癌剤、抗肥満薬など）あるいは物理的ストレス（例えば、浸水ストレス、電気ショック、明暗、低温など）などを与え、一定時間
- 10 経過した後に、血液、あるいは特定の臓器（例えば、脳、肝臓、腎臓など）、または臓器から単離した組織、あるいは細胞を得る。

- 得られた細胞に含まれる本発明のタンパク質のmRNAは、例えば、通常の方法により細胞等からmRNAを抽出し、例えばTaqManPCRなどの手法を用いることにより定量することができ、自体公知の手段によりノザンプロットを行
- 15 うことにより解析することもできる。

(ii) 本発明のタンパク質を発現する形質転換体を前述の方法に従い作製し、該形質転換体に含まれる本発明のタンパク質のmRNAを同様にして定量、解析することができる。

本発明のタンパク質の発現量を変化させる化合物のスクリーニングは、

- 20 (i) 正常あるいは疾患モデル非ヒト哺乳動物に対して、薬剤あるいは物理的ストレスなどを与える一定時間前（30分前ないし24時間前、好ましくは30分前ないし12時間前、より好ましくは1時間前ないし6時間前）もしくは一定時間後（30分後ないし3日後、好ましくは1時間後ないし2日後、より好ましくは1時間後ないし24時間後）、または薬剤あるいは物理的ストレス
- 25 と同時に被検化合物を投与し、投与後一定時間経過後（30分後ないし3日後、好ましくは1時間後ないし2日後、より好ましくは1時間後ないし24時間後）、細胞に含まれる本発明のタンパク質のmRNA量を定量、解析することにより行なうことができ、

(ii) 形質転換体を常法に従い培養する際に被検化合物を培地中に混合させ、

一定時間培養後（1日後ないし7日後、好ましくは1日後ないし3日後、より好ましくは2日後ないし3日後）、該形質転換体に含まれる本発明のタンパク質のmRNA量を定量、解析することにより行なうことができる。

- 本発明のスクリーニング方法を用いて得られる化合物は、本発明のタンパク質の発現量を変化させる作用を有する化合物であり、具体的には、（イ）本発明のタンパク質の発現量を増加させることにより、本発明のタンパク質を介する細胞刺激活性（例えば、アラキドン酸遊離、アセチルコリン遊離、細胞内Ca²⁺遊離、細胞内cAMP生成、細胞内cGMP生成、イノシトールリン酸産生、細胞膜電位変動、細胞内蛋白質のリン酸化、c-fosの活性化、pHの低下などを促進する活性または抑制する活性など）を増強させる化合物、（ロ）本発明のタンパク質の発現量を減少させることにより、該細胞刺激活性を減弱させる化合物である。

- 該化合物としては、ペプチド、タンパク、非ペプチド性化合物、合成化合物、発酵生産物などが挙げられ、これら化合物は新規な化合物であってもよいし、公知の化合物であってもよい。

該細胞刺激活性を増強させる化合物は、本発明のタンパク質等の生理活性を増強するための安全で低毒性な医薬として有用である。

該細胞刺激活性を減弱させる化合物は、本発明のタンパク質等の生理活性を減少させるための安全で低毒性な医薬として有用である。

- 本発明のスクリーニング方法を用いて得られる化合物を医薬組成物として使用する場合、常套手段に従って実施することができる。例えば、上記した本発明のタンパク質を含有する医薬と同様にして、錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、マイクロカプセル剤、無菌性溶液、懸濁液剤などとすることができる。

- このようにして得られる製剤は安全で低毒性であるので、例えば、ヒトや哺乳動物（例えば、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど）に対して投与することができる。

該化合物の投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法などにより差異はあるが、経口投与の場合、一般的に例えば、高脂血症患者（60kgとして）においては、一日につき約0.1～100mg、好ましくは約1.0～50mg

g、より好ましくは約1.0～20mgである。非経口的に投与する場合は、その1回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによっても異なるが、例えば、注射剤の形では通常例えば、高脂血症患者（60kgとして）においては、一日につき約0.01～30mg程度、好ましくは約0.1～20mg程度、より好ましくは約0.1～10mg程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、60kgあたりに換算した量を投与することができる。

（4）本発明のタンパク質の発現量を変化させる化合物を含有する各種疾病の予防および／または治療剤

10 本発明のタンパク質は前述のとおり、細胞内脂質の代謝・転送など生体内で何らかの重要な役割を果たしていると考えられる。従って、本発明のタンパク質の発現量を変化させる化合物は、本発明のタンパク質の機能の亢進または不全に関連する疾患の予防および／または治療剤として用いることができる。特に、本発明のタンパク質の発現量を増加させる化合物は脂質代謝疾患に関連する種々の疾患、例えば、糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症または神経障害などの疾患（特に、動脈硬化症、高脂血症など）の予防および／または治療剤として用いることができる。

15 該化合物を本発明のタンパク質の機能の亢進または不全に関連する疾患の予防および／または治療剤として使用する場合、常套手段に従って製剤化することができる。

20 例えば、該化合物は、必要に応じて糖衣を施した錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、マイクロカプセル剤などとして経口的に、あるいは水もしくはそれ以外の薬学的に許容し得る液との無菌性溶液、または懸濁液剤などの注射剤の形で非経口的に使用できる。例えば、該化合物を生理学的に認められる公知の担体、香味剤、賦形剤、ベヒクル、防腐剤、安定剤、結合剤などとともに一般に認められた製剤実施に要求される単位用量形態で混和することによって製造することができる。これら製剤における有効成分量は指示された範囲の適当な用量が得られるようにするものである。

錠剤、カプセル剤などに混和することができる添加剤としては、例えばゼラ

- チン、コーンスターチ、トラガント、アラビアゴムのような結合剤、結晶性セルロースのような賦形剤、コーンスターチ、ゼラチン、アルギン酸などのような膨化剤、ステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤、ショ糖、乳糖またはサッカリンのような甘味剤、ペパーミント、アカモノ油またはチェリーのような
- 5 香味剤などが用いられる。調剤単位形態がカプセルである場合には、上記タイプの材料にさらに油脂のような液状担体を含むことができる。注射のための無菌組成物は注射用水のようなベヒクル中の活性物質、胡麻油、椰子油などのような天然産出植物油などを溶解または懸濁させるなどの通常の製剤実施に従って処方することができる。注射用の水性液としては、例えば、生理食塩
- 10 水、ブドウ糖やその他の補助薬を含む等張液（例えば、D-ソルビトール、D-マンニトール、塩化ナトリウムなど）などが用いられ、適当な溶解補助剤、例えば、アルコール（例、エタノール）、ポリアルコール（例、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール）、非イオン性界面活性剤（例、ポリソルベート 80TM、HCO-50）などと併用してもよい。油性液としては、例
- 15 えば、ゴマ油、大豆油などが用いられ、溶解補助剤である安息香酸ベンジル、ベンジルアルコールなどと併用してもよい。

- また、上記予防・治療剤は、例えば、緩衝剤（例えば、リン酸塩緩衝液、酢酸ナトリウム緩衝液）、無痛化剤（例えば、塩化ベンザルコニウム、塩酸プロカインなど）、安定剤（例えば、ヒト血清アルブミン、ポリエチレングリコール
- 20 など）、保存剤（例えば、ベンジルアルコール、フェノールなど）、酸化防止剤などと配合してもよい。調製された注射液は通常、適当なアンプルに充填される。

- このようにして得られる製剤は安全で低毒性であるので、例えば、ヒトや哺乳動物（例えば、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、
- 25 サルなど）に対して投与することができる。

該化合物の投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法などにより差異はあるが、経口投与の場合、一般的に例えば、高脂血症患者（60 kg として）においては、一日につき約 0.1 ~ 100 mg、好ましくは約 1.0 ~ 50 mg、より好ましくは約 1.0 ~ 20 mg である。非経口的に投与する場合は、

その1回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによっても異なるが、例えば、注射剤の形では通常例えば、高脂血症患者（60kgとして）においては、一日につき約0.01～30mg程度、好ましくは約0.1～20mg程度、より好ましくは約0.1～10mg程度を静脈注射により投与する
5 のが好都合である。他の動物の場合も、60kgあたりに換算した量を投与することができる。

（5）本発明のタンパク質のステロール感知能を変化させる化合物のスクリーニング方法

本発明のタンパク質等を用いるか、または組換え型タンパク質等の発現系を
10 構築し、該発現系を用いた、スクリーニング法を用いることによって、本発明のタンパク質のステロール感知能を変化させる化合物（例えば、ペプチド、蛋白質、非ペプチド性化合物、合成化合物、発酵生産物など）またはその塩を効率よくスクリーニングすることができる。

このような化合物には、（イ）本発明のタンパク質を介する細胞刺激活性（例
15 例えば、アラキドン酸遊離、アセチルコリン遊離、細胞内 Ca^{2+} 遊離、細胞内cAMP生成、細胞内cGMP生成、イノシトールリン酸産生、細胞膜電位変動、細胞内蛋白質のリン酸化、c-fosの活性化、pHの低下などを促進する活性または抑制する活性など）を増強する化合物、（ロ）該細胞刺激活性を減弱する化合物などが含まれる。

すなわち、本発明は、（i）本発明のタンパク質と標識したステロールとを
20 接触させた場合と（ii）本発明のタンパク質と標識したステロールおよび試験化合物とを接触させた場合との比較を行なうことを特徴とする、本発明のタンパク質のステロール感知能を変化させる化合物のスクリーニング方法を提供する。

本発明のスクリーニング方法においては、（i）と（ii）の場合における、
25 例えば、該タンパク質等の細胞刺激活性などを測定して、比較することを特徴とする。

より具体的には、本発明は、

①ステロールを本発明のタンパク質を含有する細胞に接触させた場合と、ステ

ロールおよび試験化合物を本発明のタンパク質を含有する細胞に接触させた場合における、本発明のタンパク質を介した細胞刺激活性（例えば、アラキドン酸遊離、アセチルコリン遊離、細胞内 Ca^{2+} 遊離、細胞内 cAMP 生成、細胞内 cGMP 生成、イノシトールリン酸産生、細胞膜電位変動、細胞内蛋白質のリン酸化、c-fos の活性化、pH の低下などを促進する活性または抑制する活性など）を測定し、比較することを特徴とする、本発明のタンパク質のステロール感知能を変化させる化合物のスクリーニング方法、および

②ステロールを本発明の DNA を含有する形質転換体を培養することによって細胞膜上に発現した本発明のタンパク質に接触させた場合と、ステロールおよび試験化合物を本発明の DNA を含有する形質転換体を培養することによって細胞膜上に発現した本発明のタンパク質に接触させた場合における、本発明のタンパク質を介した細胞刺激活性（例えば、アラキドン酸遊離、アセチルコリン遊離、細胞内 Ca^{2+} 遊離、細胞内 cAMP 生成、細胞内 cGMP 生成、イノシトールリン酸産生、細胞膜電位変動、細胞内蛋白質のリン酸化、c-fos の活性化、pH の低下などを促進する活性または抑制する活性など）を測定し、比較することを特徴とする、本発明のタンパク質のステロール感知能を変化させる化合物のスクリーニング方法を提供する。

本発明のスクリーニング方法の具体的な説明を以下にする。

まず、本発明のスクリーニング方法に用いる本発明のタンパク質としては、上記した本発明のタンパク質を含有するものであれば何れのものであってもよいが、本発明のタンパク質を含有する哺乳動物の臓器の細胞膜画分が好適である。しかし、特にヒト由来の臓器は入手が極めて困難なことから、スクリーニングに用いられるものとしては、組換え体を用いて大量発現させたヒト由来のタンパク質などが適している。

本発明のタンパク質を製造するには、前述の方法が用いられるが、本発明の DNA を哺乳細胞や昆虫細胞で発現することにより行なうことが好ましい。目的とする蛋白質部分をコードする DNA 断片には相補 DNA が用いられるが、必ずしもこれに制約されるものではない。例えば、遺伝子断片や合成 DNA を用いてもよい。本発明のタンパク質をコードする DNA 断片を宿主動物細胞に

- 導入し、それらを効率よく発現させるためには、該DNA断片を昆虫を宿主とするバキュロウイルスに属する核多角体病ウイルス (nuclear polyhedrosis virus; NPV) のポリヘドリンプロモーター、SV40由来のプロモーター、レトロウイルスのプロモーター、メタロチオネインプロモーター、ヒトヒート
- 5 ショックプロモーター、サイトメガロウイルスプロモーター、SR α プロモーターなどの下流に組み込むのが好ましい。発現したレセプターの量と質の検査はそれ自体公知の方法で行うことができる。例えば、文献 [Nambi, P. ら、ザ・ジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリー (J. Biol. Chem.), 267 巻, 19555~19559頁, 1992年] に記載の方法に従って行なうことができる。
- 10 したがって、本発明のスクリーニング方法において、本発明のタンパク質を含有するものとしては、それ自体公知の方法に従って精製したタンパク質であってもよいし、該タンパク質を含有する細胞を用いてもよく、また該タンパク質を含有する細胞の膜画分を用いてもよい。
- 本発明のスクリーニング方法において、本発明のタンパク質を含有する細胞
- 15 を用いる場合、該細胞をグルタルアルデヒド、ホルマリンなどで固定化してもよい。固定化方法はそれ自体公知の方法に従って行なうことができる。
- 本発明のタンパク質を含有する細胞としては、該タンパク質を発現した宿主細胞をいうが、該宿主細胞としては、大腸菌、枯草菌、酵母、昆虫細胞、動物細胞などが好ましい。
- 20 細胞膜画分としては、細胞を破碎した後、それ自体公知の方法で得られる細胞膜が多く含まれる画分のことをいう。細胞の破碎方法としては、Potter-Elvehjem型ホモジナイザーで細胞を押し潰す方法、ワーリングブレンダーやポリトロン (Kinematica社製) のよる破碎、超音波による破碎、フレンチプレスなどで加圧しながら細胞を細いノズルから噴出させることによる破碎などが
- 25 挙げられる。細胞膜の分画には、分画遠心分離法や密度勾配遠心分離法などの遠心力による分画法が主として用いられる。例えば、細胞破碎液を低速 (500 rpm~3000 rpm) で短時間 (通常、約1分~10分) 遠心し、上清をさらに高速 (15000 rpm~30000 rpm) で通常30分~2時間遠心し、得られる沈澱を膜画分とする。該膜画分中には、発現したタンパク質

と細胞由来のリン脂質や膜蛋白質などの膜成分が多く含まれる。

- 該タンパク質を含有する細胞や膜画分中のタンパク質の量は、1細胞当たり $10^3 \sim 10^8$ 分子であるのが好ましく、 $10^5 \sim 10^7$ 分子であるのが好適である。なお、発現量が多いほど膜画分当たりのステロール感知能が高くなり、
- 5 高感度なスクリーニング系の構築が可能になるばかりでなく、同一ロットで大量の試料を測定できるようになる。

本発明のタンパク質のステロール感知能を変化させる化合物のスクリーニング法を実施するためには、例えば、適当なタンパク質画分が必要である。

- タンパク質画分としては、天然型のタンパク質画分か、またはそれと同等の
- 10 活性を有する組換え型タンパク質画分などが望ましい。ここで、同等の活性とは、同等のシグナル情報伝達作用などを示す。

- 本発明のタンパク質のステロール感知能を変化させる化合物スクリーニング法を実施するためには、例えば、タンパク質を介する細胞刺激活性（例えば、アラキドン酸遊離、アセチルコリン遊離、細胞内 Ca 遊離、細胞内 $cAMP$ 生
- 15 成、細胞内 $cGMP$ 生成、イノシトールリン酸産生、細胞膜電位変動、細胞内蛋白質のリン酸化、 $c-fos$ の活性化、 pH の低下などを促進する活性または抑制する活性など）を公知の方法または市販の測定用キットを用いて測定することができる。

- 具体的には、まず、本発明のタンパク質を含有する細胞をマルチウェルプレート等に培養する。スクリーニングを行なうにあたっては前もって新鮮な培地
- 20 あるいは細胞に毒性を示さない適当なバッファーに交換し、試験化合物などを添加して一定時間インキュベートした後、細胞を抽出あるいは上清液を回収して、生成した産物をそれぞれの方法に従って定量する。細胞刺激活性の指標とする物質（例えば、アラキドン酸など）の生成が、細胞が含有する分解酵素によって検定困難な場合は、該分解酵素に対する阻害剤を添加してアッセイを行
- 25 なってもよい。また、 $cAMP$ 産生抑制などの活性については、フォルスコリンなどで細胞の基礎的産生量を増大させておいた細胞に対する産生抑制作用として検出することができる。

細胞刺激活性を測定してスクリーニングを行なうには、適当なタンパク質を

発現した細胞が必要である。本発明のタンパク質を発現した細胞としては、天然型の本発明のタンパク質を有する細胞株、前述の組換え型タンパク質を発現した細胞株などが望ましい。

試験化合物としては、例えば、ペプチド、タンパク、非ペプチド性化合物、
5 合成化合物、発酵生産物、細胞抽出液、植物抽出液、動物組織抽出液などが用いられ、これら化合物は新規な化合物であってもよいし、公知の化合物であってもよい。

ステロール（好ましくはコレステロール）と本発明のタンパク質との結合性を変化させる化合物のスクリーニング用キットは、本発明のタンパク質、本発
10 明のタンパク質を含有する細胞、または本発明のタンパク質を含有する細胞の膜画分を含有するものなどである。

本発明のスクリーニング用キットの例としては、次のものが挙げられる。

1. スクリーニング用試薬

①測定用緩衝液および洗浄用緩衝液

15 Hanks' Balanced Salt Solution（ギブコ社製）に、0.05%のウシ血清アルブミン（シグマ社製）を加えたもの。

孔径0.45 μ mのフィルターで濾過滅菌し、4℃で保存するか、あるいは用時調製しても良い。

②本発明のタンパク質標品

20 本発明のタンパク質を発現させたCHO細胞を、12穴プレートに5×10⁵個/穴で継代し、37℃、5%CO₂、95%airで2日間培養したもの。

本発明のスクリーニング方法またはスクリーニング用キットを用いて得られる化合物は、本発明のタンパク質のステロール感知能を変化させる作用を有する化合物であり、具体的には、（イ）本発明のタンパク質を介して細胞刺激
25 活性（例えば、アラキドン酸遊離、アセチルコリン遊離、細胞内Ca²⁺遊離、細胞内cAMP生成、細胞内cGMP生成、イノシトールリン酸産生、細胞膜電位変動、細胞内蛋白質のリン酸化、c-fosの活性化、pHの低下などを促進する活性または抑制する活性など）を有する化合物、（ロ）該細胞刺激活性を減弱する化合物である。

該化合物としては、ペプチド、タンパク、非ペプチド性化合物、合成化合物、発酵生産物などが挙げられ、これら化合物は新規な化合物であってもよいし、公知の化合物であってもよい。

本発明のタンパク質等のステロール感知能を増強させる化合物は、本発明の
5 タンパク質の有するステロールに対する生理活性を促進することができるので、本発明のタンパク質の活性を促進する安全で低毒性な医薬として有用である。

本発明のタンパク質等のステロール感知能を減弱させる化合物は、本発明の
10 タンパク質の有するステロールに対する生理活性を抑制することができるので、本発明のタンパク質の活性を抑制する安全で低毒性な医薬として有用である。

本発明のスクリーニング方法またはスクリーニング用キットを用いて得られる化合物を上述の医薬組成物として使用する場合、常套手段に従って実施することができる。例えば、上記した本発明のタンパク質を含有する医薬と同様
15 にして、錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、マイクロカプセル剤、無菌性溶液、懸濁液剤などとすることができる。

このようにして得られる製剤は安全で低毒性であるので、例えば、ヒトや哺乳動物（例えば、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど）に対して投与することができる。

20 該化合物の投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法などにより差異はあるが、経口投与の場合、一般的に例えば、高脂血症患者（60 kgとして）においては、一日につき約0.1～100 mg、好ましくは約1.0～50 mg、より好ましくは約1.0～20 mgである。非経口的に投与する場合は、その1回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによっても異なる
25 が、例えば、注射剤の形では通常例えば、高脂血症患者（60 kgとして）においては、一日につき約0.01～30 mg程度、好ましくは約0.1～20 mg程度、より好ましくは約0.1～10 mg程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、60 kgあたりに換算した量を投与することができる。

(6) 本発明のタンパク質のステロール感知能を変化させる化合物を含有する各種疾病の予防および／または治療剤

本発明のタンパク質は前述のとおり、細胞内脂質の代謝・転送など生体内で何らかの重要な役割を果たしていると考えられる。従って、本発明のタンパク質のステロール感知能を変化させる化合物は、本発明のタンパク質の機能の亢進または不全に関連する疾患の予防および／または治療剤として用いることができる。

該化合物を本発明のタンパク質の機能不全に関連する疾患の予防および／または治療剤として使用する場合は、常套手段に従って製剤化することができる。

例えば、該化合物は、必要に応じて糖衣を施した錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、マイクロカプセル剤などとして経口的に、あるいは水もしくはそれ以外の薬学的に許容し得る液との無菌性溶液、または懸濁液剤などの注射剤の形で非経口的に使用できる。例えば、該化合物を生理学的に認められる公知の担体、香味剤、賦形剤、ベヒクル、防腐剤、安定剤、結合剤などとともに一般に認められた製剤実施に要求される単位用量形態で混和することによって製造することができる。これら製剤における有効成分量は指示された範囲の適当な用量が得られるようにするものである。

錠剤、カプセル剤などに混和することができる添加剤としては、例えばゼラチン、コーンスターチ、トラガント、アラビアゴムのような結合剤、結晶性セルロースのような賦形剤、コーンスターチ、ゼラチン、アルギン酸などのような膨化剤、ステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤、ショ糖、乳糖またはサッカリンのような甘味剤、ペパーミント、アカモノ油またはチェリーのような香味剤などが用いられる。調剤単位形態がカプセルである場合には、上記タイプの材料にさらに油脂のような液状担体を含有することができる。注射のための無菌組成物は注射用水のようなベヒクル中の活性物質、胡麻油、椰子油などのような天然産出植物油などを溶解または懸濁させるなどの通常の製剤実施に従って処方することができる。注射用の水性液としては、例えば、生理食塩水、ブドウ糖やその他の補助薬を含む等張液（例えば、D-ソルビトール、D

ーマンニトール、塩化ナトリウムなど)などが用いられ、適当な溶解補助剤、例えば、アルコール(例、エタノール)、ポリアルコール(例、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール)、非イオン性界面活性剤(例、ポリソルベート 80TM、HCO-50)などと併用してもよい。油性液としては、例
5 えば、ゴマ油、大豆油などが用いられ、溶解補助剤である安息香酸ベンジル、ベンジルアルコールなどと併用してもよい。

また、上記予防・治療剤は、例えば、緩衝剤(例えば、リン酸塩緩衝液、酢酸ナトリウム緩衝液)、無痛化剤(例えば、塩化ベンザルコニウム、塩酸プロカインなど)、安定剤(例えば、ヒト血清アルブミン、ポリエチレングリコー
10 ルなど)、保存剤(例えば、ベンジルアルコール、フェノールなど)、酸化防止剤などと配合してもよい。調製された注射液は通常、適当なアンプルに充填される。

このようにして得られる製剤は安全で低毒性であるので、例えば、ヒトや哺乳動物(例えば、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、
15 サルなど)に対して投与することができる。

該化合物の投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法などにより差異はあるが、経口投与の場合、一般的に例えば、高脂血症患者(60 kgとして)においては、一日につき約0.1~100 mg、好ましくは約1.0~50 mg、より好ましくは約1.0~20 mgである。非経口的に投与する場合は、
20 その1回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによっても異なるが、例えば、注射剤の形では通常例えば、高脂血症患者(60 kgとして)においては、一日につき約0.01~30 mg程度、好ましくは約0.1~20 mg程度、より好ましくは約0.1~10 mg程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、60 kgあたりに換算した量を投与す
25 ることができる。

(7) 本発明のタンパク質の定量

本発明の抗体は、本発明のタンパク質を特異的に認識することができるので、被検液中の本発明のタンパク質の定量、特にサンドイッチ免疫測定法による定量などに使用することができる。すなわち、本発明は、例えば、(i) 本発明

の抗体と、被検液および標識化タンパク質とを競合的に反応させ、該抗体に結合した標識化タンパク質の割合を測定することを特徴とする被検液中の本発明のタンパク質の定量法、

- (ii) 被検液と担体上に不溶化した本発明の抗体および標識化された本発明の抗体とを同時あるいは連続的に反応させたのち、不溶化担体上の標識剤の活性を測定することを特徴とする被検液中の本発明のタンパク質の定量法を提供する。

- 上記 (ii) においては、一方の抗体が本発明のタンパク質のN端部を認識する抗体で、他方の抗体が本発明のタンパク質のC端部に反応する抗体であることが好ましい。

- 本発明のタンパク質に対するモノクローナル抗体（以下、本発明のモノクローナル抗体と称する場合がある）を用いて本発明のタンパク質の測定を行なえるほか、組織染色等による検出を行なうこともできる。これらの目的には、抗体分子そのものを用いてもよく、また、抗体分子の $F(a b')_2$ 、 $F a b'$ 、あるいは $F a b$ 画分を用いてもよい。本発明のタンパク質に対する抗体を用いる測定法は、特に制限されるべきものではなく、被測定液中の抗原量（例えば、タンパク質量）に対応した抗体、抗原もしくは抗体-抗原複合体の量を化学的または物理的手段により検出し、これを既知量の抗原を含む標準液を用いて作製した標準曲線より算出する測定法であれば、いずれの測定法を用いてもよい。例えば、ネフロメトリー、競合法、イムノメトリック法およびサンドイッチ法が好適に用いられるが、感度、特異性の点で、後述するサンドイッチ法を用いるのが特に好ましい。

- 標識物質を用いる測定法に用いられる標識剤としては、例えば、放射性同位元素、酵素、蛍光物質、発光物質などが用いられる。放射性同位元素としては、例えば、 $[^{125}I]$ 、 $[^{131}I]$ 、 $[^3H]$ 、 $[^{14}C]$ などが用いられる。上記酵素としては、安定で比活性の大きなものが好ましく、例えば、 β -ガラクトシダーゼ、 β -グルコシダーゼ、アルカリフォスファターゼ、パーオキシダーゼ、リンゴ酸脱水素酵素などが用いられる。蛍光物質としては、例えば、フルオレスカミン、フルオレッセンイソチオシアネートなどが用いられる。発光

物質としては、例えば、ルミノール、ルミノール誘導体、ルシフェリン、ルシゲニンなどが用いられる。さらに、抗体あるいは抗原と標識剤との結合にビオチン-アビジン系を用いることもできる。

- 抗原あるいは抗体の不溶化に当っては、物理吸着を用いてもよく、また通常、
- 5 蛋白質あるいは酵素等を不溶化、固定化するのに用いられる化学結合を用いる方法でもよい。担体としては、例えば、アガロース、デキストラン、セルロースなどの不溶性多糖類、ポリスチレン、ポリアクリルアミド、シリコン等の合成樹脂、あるいはガラス等が用いられる。

- サンドイッチ法においては不溶化した本発明のモノクローナル抗体に被検
- 10 液を反応させ（１次反応）、さらに標識化した本発明のモノクローナル抗体を反応させ（２次反応）たのち、不溶化担体上の標識剤の活性を測定することにより被検液中の本発明のタンパク質量を定量することができる。１次反応と２次反応は逆の順序に行なっても、また、同時に行なってもよいし時間をずらして行なってもよい。標識化剤および不溶化の方法は上記のそれらに準じることが
- 15 できる。

また、サンドイッチ法による免疫測定法において、固相用抗体あるいは標識用抗体に用いられる抗体は必ずしも１種類である必要はなく、測定感度を向上させる等の目的で２種類以上の抗体の混合物を用いてもよい。

- 本発明のサンドイッチ法によるタンパク質の測定法においては、１次反応と
- 20 ２次反応に用いられる本発明のモノクローナル抗体はタンパク質の結合する部位が相異なる抗体が好ましく用いられる。即ち、１次反応および２次反応に用いられる抗体は、例えば、２次反応で用いられる抗体が、タンパク質のＣ端部を認識する場合、１次反応で用いられる抗体は、好ましくはＣ端部以外、例えばＮ端部を認識する抗体が用いられる。

- 25 本発明のモノクローナル抗体をサンドイッチ法以外の測定システム、例えば、競合法、イムノメトリック法あるいはネフロメトリーなどに用いることができる。競合法では、被検液中の抗原と標識抗原とを抗体に対して競合的に反応させたのち、未反応の標識抗原と（Ｆ）と抗体と結合した標識抗原（Ｂ）とを分離し（Ｂ／Ｆ分離）、Ｂ、Ｆいずれかの標識量を測定し、被検液中の抗原量を

定量する。本反応法には、抗体として可溶性抗体を用い、B/F分離をポリエチレングリコール、上記抗体に対する第2抗体などを用いる液相法、および、第1抗体として固相化抗体を用いるか、あるいは、第1抗体は可溶性のものを用い第2抗体として固相化抗体を用いる固相化法とが用いられる。

- 5 イムノメトリック法では、被検液中の抗原と固相化抗原とを一定量の標識化抗体に対して競合反応させた後固相と液相を分離するか、あるいは、被検液中の抗原と過剰量の標識化抗体とを反応させ、次に固相化抗原を加え未反応の標識化抗体を固相に結合させたのち、固相と液相を分離する。次に、いずれかの相の標識量を測定し被検液中の抗原量を定量する。
- 10 また、ネフロメトリーでは、ゲル内あるいは溶液中で抗原抗体反応の結果、生じた不溶性の沈降物の量を測定する。被検液中の抗原量が僅かであり、少量の沈降物しか得られない場合にもレーザーの散乱を利用するレーザーネフロメトリーなどが好適に用いられる。

- これら個々の免疫学的測定法を本発明の測定方法に適用するにあたっては、
- 15 特別の条件、操作等の設定は必要とされない。それぞれの方法における通常の条件、操作法に当業者の通常の技術的配慮を加えて本発明のタンパク質またはその塩の測定系を構築すればよい。これらの一般的な技術手段の詳細については、総説、成書などを参照することができる〔例えば、入江 寛編「ラジオイムノアッセイ」(講談社、昭和49年発行)、入江 寛編「続ラジオイムノア
- 20 ャッセイ」(講談社、昭和54年発行)、石川栄治ら編「酵素免疫測定法」(医学書院、昭和53年発行)、石川栄治ら編「酵素免疫測定法」(第2版)(医学書院、昭和57年発行)、石川栄治ら編「酵素免疫測定法」(第3版)(医学書院、昭和62年発行)、「メソッズ・イン・エンジモロジー (Methods in ENZYMOLOGY)」Vol. 70(Immunochemical Techniques(Part A))、同書 Vol.
- 25 73(Immunochemical Techniques(Part B))、同書 Vol. 74(Immunochemical Techniques(Part C))、同書 Vol. 84(Immunochemical Techniques(Part D:Selected Immunoassays))、同書 Vol. 92(Immunochemical Techniques(Part E:Monoclonal Antibodies and General Immunoassay Methods))、同書 Vol. 121(Immunochemical Techniques(Part I:Hybridoma Technology and

Monoclonal Antibodies)) (以上、アカデミックプレス社発行)など参照]。

以上のように、本発明の抗体を用いることによって、本発明のタンパク質またはその塩を感度良く定量することができる。

さらに、本発明の抗体を用いて、生体内での本発明のタンパク質またはその塩を定量することによって、本発明のタンパク質の機能不全に関連する各種疾患の診断をすることができる。

また、本発明の抗体は、体液や組織などの被検体中に存在する本発明のタンパク質を特異的に検出するために使用することができる。また、本発明のタンパク質を精製するために使用する抗体カラムの作製、精製時の各分画中の本発明のタンパク質の検出、被検細胞内における本発明のタンパク質の挙動の分析などのために使用することができる。

(8) 本発明のタンパク質に対する抗体による中和

本発明のタンパク質に対する抗体の、該タンパク質に対する中和活性とは、即ち、該タンパク質の関与するシグナル伝達機能を不活性化する活性を意味する。従って、該抗体が中和活性を有する場合は、該タンパク質の関与するシグナル伝達、例えば、該タンパク質を介する細胞刺激活性（例えば、アラキドン酸遊離、アセチルコリン遊離、細胞内 Ca^{2+} 遊離、細胞内 cAMP 生成、細胞内 cGMP 生成、イノシトールリン酸産生、細胞膜電位変動、細胞内蛋白質のリン酸化、c-fos の活性化、pH の低下などを促進する活性または抑制する活性など）を不活性化することができる。従って、該タンパク質の過剰発現などに起因する疾患の予防および／または治療に用いることができる。

(9) 本発明のタンパク質をコードする DNA を有する動物の作製

本発明の DNA を用いて、本発明のタンパク質を発現するトランスジェニック動物を作製することができる。動物としては、哺乳動物（例えば、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど）など（以下、動物と略記する場合がある）が挙げられるが、特に、マウス、ウサギなどが好適である。

本発明の DNA を対象動物に転移させるにあたっては、該 DNA を動物細胞で発現させうるプロモーターの下流に結合した遺伝子コンストラクトとして

用いるのが一般に有利である。例えば、ウサギ由来の本発明のDNAを転移させる場合、これと相同性が高い動物由来の本発明のDNAを動物細胞で発現させる各種プロモーターの下流に結合した遺伝子コンストラクトを、例えば、ウサギ受精卵へマイクロインジェクションすることによって本発明のタンパク質を高産生するDNA転移動物を作出できる。このプロモーターとしては、
5 例えば、ウイルス由来プロモーター、メタロチオネイン等のユビキアスな発現プロモーターも使用しうるが、好ましくは脳で特異的に発現するNGF遺伝子プロモーターやエノラーゼ遺伝子プロモーターなどが用いられる。

受精卵細胞段階における本発明のDNAの転移は、対象動物の胚芽細胞および体細胞の全てに存在するように確保される。DNA転移後の作出動物の胚芽細胞において本発明のタンパク質が存在することは、作出動物の子孫が全てその胚芽細胞及び体細胞の全てに本発明のタンパク質を有することを意味する。遺伝子を受け継いだこの種の動物の子孫はその胚芽細胞および体細胞の全てに本発明のタンパク質を有する。

15 本発明のDNA転移動物は、交配により遺伝子を安定に保持することを確認して、該DNA保有動物として通常の飼育環境で飼育継代を行うことができる。さらに、目的DNAを保有する雌雄の動物を交配することにより、導入遺伝子を相同染色体の両方に持つホモザイゴート動物を取得し、この雌雄の動物を交配することによりすべての子孫が該DNAを有するように繁殖継代することが
20 できる。

本発明のDNAが転移された動物は、本発明のタンパク質が高発現させられているので、本発明のタンパク質のステロール感知能を変化させる化合物のスクリーニング用の動物などとして有用である。

本発明のDNA転移動物を、組織培養のための細胞源として使用することも
25 できる。例えば、本発明のDNA転移マウスの組織中のDNAもしくはRNAを直接分析するか、あるいは遺伝子により発現された本発明のタンパク質が存在する組織を分析することにより、本発明のタンパク質について分析することができる。本発明のタンパク質を有する組織の細胞を標準組織培養技術により培養し、これらを使用して、例えば、脳や末梢組織由来のような一般に培養困

難な組織からの細胞の機能を研究することができる。また、その細胞を用いることにより、例えば、各種組織の機能を高めるような医薬の選択も可能である。また、高発現細胞株があれば、そこから、本発明のタンパク質を単離精製することも可能である。

- 5 (10) SSD含有タンパクに働いて細胞内コレステロール輸送調節作用を有する化合物

さらに、本発明のタンパク質などのSSD含有タンパクに働いて細胞内コレステロール輸送調節作用を有する化合物は、コレステロールの生合成や吸収、またはリポタンパク質としての分泌やその細胞内への取り込みや蓄積・貯蔵、
10 あるいは放出を制御することができる。したがって、該化合物を含有してなる医薬は脂質代謝疾患に関連する種々の疾患、例えば、糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症または神経障害などの疾患（特に、動脈硬化症、高脂血症など）の予防・治療剤として用いることができる。

本明細書および図面において、塩基やアミノ酸などを略号で表示する場合、
15 IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature による略号あるいは当該分野における慣用略号に基づくものであり、その例を下記する。またアミノ酸に関し光学異性体があり得る場合は、特に明示しなければL体を示すものとする。

	DNA	: デオキシリボ核酸
20	cDNA	: 相補的デオキシリボ核酸
	A	: アデニン
	T	: チミン
	G	: グアニン
	C	: シトシン
25	RNA	: リボ核酸
	mRNA	: メッセンジャーリボ核酸
	dATP	: デオキシアデノシン三リン酸
	dTTP	: デオキシチミジン三リン酸
	dGTP	: デオキシグアノシン三リン酸

	d C T P	: デオキシシチジン三リン酸
	A T P	: アデノシン三リン酸
	E D T A	: エチレンジアミン四酢酸
	S D S	: ドデシル硫酸ナトリウム
5	G l y	: グリシン
	A l a	: アラニン
	V a l	: バリン
	L e u	: ロイシン
	I l e	: イソロイシン
10	S e r	: セリン
	T h r	: スレオニン
	C y s	: システイン
	M e t	: メチオニン
	G l u	: グルタミン酸
15	A s p	: アスパラギン酸
	L y s	: リジン
	A r g	: アルギニン
	H i s	: ヒスチジン
	P h e	: フェニルアラニン
20	T y r	: チロシン
	T r p	: トリプトファン
	P r o	: プロリン
	A s n	: アスパラギン
	G l n	: グルタミン
25	p G l u	: ピログルタミン酸
	M e	: メチル基
	E t	: エチル基
	B u	: ブチル基
	P h	: フェニル基

TC : チアゾリジン-4 (R) -カルボキサミド基

また、本明細書中で繁用される置換基、保護基および試薬を下記の記号で表記する。

- | | | |
|----|---------------------|-----------------------------------|
| 5 | Tos | : p-トルエンスルフォニル |
| | CHO | : ホルミル |
| | Bzl | : ベンジル |
| | Cl ₂ Bzl | : 2, 6-ジクロロベンジル |
| | Bom | : ベンジルオキシメチル |
| 10 | Z | : ベンジルオキシカルボニル |
| | Cl-Z | : 2-クロロベンジルオキシカルボニル |
| | Br-Z | : 2-ブロモベンジルオキシカルボニル |
| | Boc | : t-ブトキシカルボニル |
| | DNP | : ジニトロフェノール |
| 15 | Trt | : トリチル |
| | Bum | : t-ブトキシメチル |
| | Fmoc | : N-9-フルオレニルメトキシカルボニル |
| | HOBt | : 1-ヒドロキシベンズトリアゾール |
| | HOObt | : 3, 4-ジヒドロ-3-ヒドロキシ-4-オキソ- |
| 20 | | 1, 2, 3-ベンゾトリアジン |
| | HONB | : 1-ヒドロキシ-5-ノルボルネン-2, 3-ジカルボキシイミド |
| | DCC | : N, N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド |

本明細書の配列表の配列番号は、以下の配列を示す。

〔配列番号：1〕

- 25 本発明のヒトSSP1タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：2〕

本発明のヒトSSP1タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：3〕

本発明のヒトSSP1タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：4〕

- 5 本発明のヒトSSP1タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：5〕

本発明のヒトSSP1タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

- 10 〔配列番号：6〕

本発明のヒトSSP1タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：7〕

- 15 配列番号：9で表わされるアミノ酸配列を有する本発明のヒトSSP1タンパク質をコードするcDNAの塩基配列を示す。

〔配列番号：8〕

本発明のヒトSSP1タンパク質に含有されるSSDのアミノ酸配列を示す。

〔配列番号：9〕

本発明のヒト肝臓由来SSP1タンパク質のアミノ酸配列を示す。

- 20 〔配列番号：10〕

本発明のヒトSSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：11〕

- 25 本発明のヒトSSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：12〕

本発明のヒトSSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：13〕

本発明のヒトSSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：14〕

5 本発明のヒトSSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：15〕

配列番号：17で表わされるアミノ酸配列を有する本発明のヒト精巢由来SSP2タンパク質をコードするcDNAの塩基配列を示す。

〔配列番号：16〕

10 本発明のヒトSSP2タンパク質に含有されるSSDのアミノ酸配列を示す。

〔配列番号：17〕

本発明のヒト精巢由来SSP2タンパク質のアミノ酸配列を示す。

〔配列番号：18〕

15 本発明のヒトSSP1のノーザン解析に用いるプローブを作製するために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：19〕

本発明のヒトSSP1のノーザン解析に用いるプローブを作製するために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：20〕

20 本発明のヒトSSP1のノーザン解析に用いるプローブを作製するために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：21〕

本発明のヒトSSP1のノーザン解析に用いるプローブを作製するために使用したプライマーの塩基配列を示す。

25 〔配列番号：22〕

本発明のヒトSSP1タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：23〕

本発明のヒトSSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするた

めに使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：24〕

本発明のヒトSSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

5 〔配列番号：25〕

本発明のヒトSSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：26〕

10 本発明のヒトSSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：27〕

本発明のヒトSSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：28〕

15 配列番号：8で表わされるアミノ酸配列を有する本発明のヒトSSP1タンパク質のSSDをコードするcDNAの塩基配列を示す。

〔配列番号：29〕

配列番号：16で表わされるアミノ酸配列を有する本発明のヒトSSP2タンパク質のSSDをコードするcDNAの塩基配列を示す。

20 〔配列番号：30〕

本発明のヒトSSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：31〕

25 本発明のヒトSSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：32〕

配列番号：34で表されるアミノ酸配列を有する本発明のヒト精巢由来SSP2-V1タンパク質をコードするcDNAの塩基配列を示す。

〔配列番号：33〕

配列番号：35で表されるアミノ酸配列を有する本発明のヒト精巣由来SSP2-V2タンパク質をコードするcDNAの塩基配列を示す。

〔配列番号：34〕

本発明のヒト精巣由来SSP2-V1タンパク質のアミノ酸配列を示す。

5 〔配列番号：35〕

本発明のヒト精巣由来SSP2-V2タンパク質のアミノ酸配列を示す。

〔配列番号：36〕

本発明のヒトSSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

10 〔配列番号：37〕

本発明のヒトSSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：38〕

15 ゲノミクス (Genomics), 65, 137-145, 2000に記載のアミノ酸配列に挿入されているアミノ酸配列であり、配列番号：9で表わされるアミノ酸配列に含まれないアミノ酸配列を示す。

〔配列番号：39〕

配列番号：38で表わされるアミノ酸配列をコードするcDNAの塩基配列を示す。

20 〔配列番号：40〕

本発明のヒト脳由来SSP2タンパク質のアミノ酸配列を示す。

〔配列番号：41〕

配列番号：40で表わされるアミノ酸配列を有する本発明のヒト脳由来SSP2タンパク質をコードするcDNAの塩基配列を示す。

25 〔配列番号：42〕

KIAAI377 (DNA Res., 7, 65-73(2000)) の塩基配列を示す。

〔配列番号：43〕

本発明のヒト脳由来SSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：44〕

本発明のヒト脳由来SSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：45〕

- 5 本発明のヒト脳由来SSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：46〕

本発明のヒト脳由来SSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために使用したプライマーの塩基配列を示す。

- 10 〔配列番号：47〕

本発明のヒト脳由来SSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために行ったPCRで増幅した領域を示す。

〔配列番号：48〕

- 15 本発明のヒト脳由来SSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために行ったPCRで増幅した領域を示す。

〔配列番号：49〕

本発明のヒト脳由来SSP2タンパク質をコードするcDNAに含まれる未知領域を示す。

〔配列番号：50〕

- 20 本発明のヒト脳由来SSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために行ったPCRで増幅した領域を示す。

〔配列番号：51〕

本発明のヒト脳由来SSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために行ったPCRで増幅した領域を示す。

- 25 〔配列番号：52〕

本発明のヒト脳由来SSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニングするために行ったPCRで増幅した領域を示す。

〔配列番号：53〕

本発明のヒト脳由来SSP2タンパク質をコードするcDNAをクローニング

するために行ったPCRで増幅した領域を示す。

〔配列番号：54〕

本発明のヒトSSP1遺伝子の発現解析に用いたプローブの塩基配列を示す。

〔配列番号：55〕

5 本発明のヒトSSP1遺伝子の発現解析に用いたプローブの塩基配列を示す。

〔配列番号：56〕

本発明のヒトSSP1遺伝子の発現解析に用いたプローブの塩基配列を示す。

〔配列番号：57〕

本発明のヒトSSP2遺伝子の発現解析に用いたプローブの塩基配列を示す。

10 〔配列番号：58〕

本発明のヒトSSP2遺伝子の発現解析に用いたプローブの塩基配列を示す。

〔配列番号：59〕

本発明のヒトSSP2遺伝子の発現解析に用いたプローブの塩基配列を示す。

後述の実施例1で得られた形質転換体エシェリヒア コリ (Escherichia coli)DH5 α /pTB2080は、平成12年2月2日から通商産業省工業技術院生命工学工業技術研究所(NIBH)に寄託番号FERMBP-7015として、平成12年1月13日から財団法人・発酵研究所(IFO)に寄託番号IFO16351として寄託されている。

20 後述の実施例2で得られた形質転換体エシェリヒア コリ (Escherichia coli)DH5 α /pTB2081は、平成12年2月2日から通商産業省工業技術院生命工学工業技術研究所(NIBH)に寄託番号FERMBP-7016として、平成12年1月13日から財団法人・発酵研究所(IFO)に寄託番号IFO16352として寄託されている。

25 後述の実施例5で得られた形質転換体エシェリヒア コリ (Escherichia coli)DH5 α /pTB2221は、平成13年3月14日から経済産業省産業技術総合研究所生命工学工業技術研究所(NIBH)に寄託番号FERMBP-7502として、平成13年3月8日から財団法人・発酵研究所(IFO)に寄託番号IFO16580として寄託されている。

実施例

以下に実施例を示して、本発明をより詳細に説明するが、これらは本発明の範囲を限定するものではない。なお、大腸菌を用いての遺伝子操作法は、モレキュラー・クローニング (Molecular cloning) に記載されている方法に従った。

5 実施例 1 ヒト肝臓由来 SSP1 タンパク質をコードする cDNA のクローニング

ヒト肝臓由来 cDNA Library を用いて以下の要領で PCR を行うことによりヒト SSP1 タンパク質をコードする cDNA のクローニングを行った。ヒト肝臓由来 Gene Pool cDNA (Invitrogen 社) 及び、HepG2細胞から精製した mRNA
10 からランダムプライマーを用いて RT-PCR を行って取得した cDNA を用いて、配列番号：1 で表されるオリゴDNA をセンス鎖プライマーとして、配列番号：2 で表されるオリゴDNA をアンチセンス鎖プライマーとして PCR を行い、各プライマーを起点とする 5' 上流側の配列を得た。同じく配列番号：3 及び配列番号：4 で表されるオリゴDNA をセンス鎖及びアンチセンス鎖プライマーとして PCR を
15 行い、各プライマーを起点とするその下流側の配列を得た。さらに、配列番号：5 及び配列番号：6 で表されるオリゴDNA をセンス鎖及びアンチセンス鎖プライマーとして PCR を行い、各プライマーを起点とする 3' 下流側の配列を得た。ここで得られた 3 つの各 2 本鎖 DNA の塩基配列を決定したところ、オーバーラップする共通配列が存在していたことから、これらの配列は同一遺伝子に由来す
20 ることが判った。そこで 3 つの PCR により得られた各 cDNA 断片をこの共通配列部分で制限酵素処理により接合し、最終的に配列番号：7 で表される ORF として全長 3,999 塩基対 (bp) の cDNA 断片を得た。この cDNA 断片には配列番号：7 で表される 194 アミノ酸残基の SSD 配列を含む 配列番号：9 で表される 1,332 個のアミノ酸からなる新規なヒト SSP1 タンパク質がコードされていた。配列番号：8 で表される SSD 配列をコードする塩基配列は、配列番号：2
25 8 で表される。このヒト SSP1 タンパク質はヒト NPC1 タンパク質と相同性が最も高く、N 末の NPC Domain の領域に 8 カ所存在するシステイン残基の位置が一致しており、その両者間の相同性はアミノ酸レベルで 42.0% であった。

本発明のヒト肝臓 SSP1 タンパク質をコードする cDNA (配列番号：7)

を pUC118 (宝酒造) に導入し、得られたプラスミド pTB2080 を自体公知の方法に従い大腸菌 (*Escherichia coli*) DH5 α に導入して、形質転換体：大腸菌 (*Escherichia coli*) DH5 α / pTB2080 を得た。

実施例2 ヒト精巣由来 SSP2 タンパク質をコードする cDNA のクローニング

- 5 ヒト精巣由来 cDNA Library を用いて以下の要領で PCR を行うことによりヒト SSP2 タンパク質をコードする cDNA のクローニングを行った。ヒト精巣由来 Marathon-Ready cDNA (CLONTECH 社) を用いて、配列番号：10 で表されるオリゴDNAをアンチセンス鎖プライマーとして5' RACE を行い、各プライマーを起点とする 5' 上流側の配列を得た。また、ヒト SSP1 タンパク質をコードする cDNA のクローニングの場合と同様にして、配列番号：11 及び配列番号：12 で表されるオリゴDNAをセンス鎖及びアンチセンス鎖プライマーとしてPCRを行い、各プライマーを起点とするその下流側の配列を得た。さらに、配列番号：13 及び配列番号：14 で表されるオリゴDNAをセンス鎖及びアンチセンス鎖プライマーとしてPCRを行い、各プライマーを起点とする 3' 下流側の配列を得た。ここで得られた3つの各2本鎖DNAの塩基配列を決定したところ、オーバーラップする共通配列が存在していたことから、これらの配列は同一遺伝子に由来することが判った。この共通配列部分で接合したcDNA 断片のORFは配列番号：15 で表される 全長 3,264 塩基対 (bp) のcDNAだった。このcDNA断片には配列番号：16 で表される 200 アミノ酸残基のSSD 配列を含む 配列番号：17 で表される 1,087 個のアミノ酸からなる新規なヒト SSP2 タンパク質がコードされていた。配列番号：16 で表されるSSD配列をコードする塩基配列は、配列番号：29 で表される。
- 10
15
20

- 本発明のヒト精巣由来 SSP2 タンパク質をコードする cDNA (配列番号：15) を取得するために、ヒト精巣由来 Marathon-Ready cDNA (CLONTECH 社) を用いて、さらにこの配列領域についてPCRを行った。配列番号：30 及び配列番号：31 で表されるオリゴ DNA をセンス鎖及びアンチセンス鎖プライマーとして PCR を行い、各プライマーを起点とする 5' 上流側の配列を得た。この時、オルタネーティブスプライシングバリエーションと思われる、ORFとして配列番号：32 及び配列番号：33 で表される、目的とする配列以外の塩基配列
- 25

を有するcDNA断片を取得した。これらは全て、配列番号：16で表されるSSD領域をコードする部位を含有するものの、塩基の挿入や欠失が入ることで生じるフレームシフトによりORF配列の途中にストップコドンが入るために未成熟なSSP2タンパクをコードしていた。配列番号：32で示されるcDNAは配列番号：34で表される456個のアミノ酸からなるSSP2-V1をコードし、配列番号：33で示されるcDNAは配列番号：35で表される445個のアミノ酸からなるSSP2-V2をコードしていた。

また、配列番号：36及び配列番号：37で表されるオリゴDNAをセンス鎖及びアンチセンス鎖プライマーとしてPCRを行い、各プライマーを起点とする3'下流側の配列を得た。これらのPCRで得られた各cDNA断片をこの共通配列部分にある制限酵素処理により接合し、最終的に配列番号：15で表されるcDNA断片をpT7 (Novagene社)に導入し、プラスミドpTB2081を得た。得られたプラスミドpTB2081を自体公知の方法に従い大腸菌 (Escherichia coli) DH5 α に導入して、形質転換体：大腸菌 (Escherichia coli) DH5 α /pTB2081を得た。

実施例3 SSP1のヒト組織における発現およびその組織特異性の検討

ノーザン解析に用いるプローブはヒト胎児由来 cDNA Library を用いて以下の要領でPCRを行うことにより行った。ヒト胎児由来Marathon Ready cDNA (CLONTECH 社)を用いて、配列番号：18で表されるオリゴDNAをセンス鎖プライマーとして、配列番号：19で表されるオリゴDNAをアンチセンス鎖プライマーとしてPCRを行い、得られた増幅産物を用いて配列番号：20で表されるオリゴDNAをセンス鎖プライマーとして、配列番号：21で表されるオリゴDNAをアンチセンス鎖プライマーとしてPCRを行い、配列番号：22で表されるcDNAを得た。

配列番号：22で表されるcDNAをプローブとして用い、Multiple Tissue Northern Blots (CLONTECH)、Multiple Tissue Northern Blots II (CLONTECH)、及びMultiple Tissue Northern Blots III (CLONTECH)に対してハイブリダイズすることにより、SSP1 mRNAの発現組織特異性を解析した(図1)。図1に示す様に、SSP1は肝特異的に発現していることが判った。

実施例4 SSP2のヒト組織における発現およびその組織特異性の検討

ノーザン解析に用いるプローブはヒト胎児由来 cDNA Library を用いて以下の要領で PCR を行うことにより行った。ヒト胎児由来 Marathon Ready cDNA (CLONTECH 社) を用いて、配列番号：23 で表されるオリゴDNAをセンス鎖プライマーとして、配列番号：24 で表されるオリゴDNAをアンチセンス鎖プライマーとしてPCRを行い、得られた増幅産物を用いて配列番号：25 で表されるオリゴDNAをセンス鎖プライマーとして、配列番号：26 で表されるオリゴDNAをアンチセンス鎖プライマーとしてPCRを行い、配列番号：27 で表される cDNA を得た。

10 配列番号：27 で表される cDNA をプローブとして用い、Multiple Tissue Northern Blots (CLONTECH)、Multiple Tissue Northern Blots II (CLONTECH)、及び Multiple Tissue Northern Blots III (CLONTECH) に対してハイブリダイズすることにより、SSP2 mRNA の発現組織特異性を解析した (図2)。図2に示すように、SSP2 は脳、脊髄に約6kbのmRNAとして発現され、また精巣では約4kb
15 のmRNAとして発現されることが判った。

実施例5 ヒト脳由来 SSP2 タンパク質をコードする cDNA のクローニング

脳・脊髄に発現する SSP2 遺伝子は約6kbpのmRNAと、精巣のものより長く、より上流から転写されている可能性が考えられた。また、KIAA1377として報告されたヒト脳由来ESTクローンの配列 (DNA Res., 7, 65-73 (2000)) は、上記で
20 得たヒト精巣由来 SSP2 の配列を含み、さらに上流約1kbpを含んでいた (配列番号：42)。しかし、このKIAA1377の配列は明確に5'末端を規定するものではなかった。そこで、ヒト脳に発現する SSP2 遺伝子の5'末端構造を決定した。具体的には、ヒト脳 poly(A)+RNA より配列番号：43 で表されるプライマーを用いて逆転写反応を行う際に、配列番号：44 で表される SMART III oligo
25 (Clontech) を混在させて反応し、5'末端における伸長鎖の変換を起こさせた。これを鋳型として、配列番号：45 および配列番号：46 でそれぞれ表される5'リン酸化プライマーを用いたPCRを行い、SSP2 5'末端領域を増幅した。増幅産物を精製した後に、ライゲーション反応を行い、産物の環状化あるいはコンカテマー化を行い、これを鋳型として配列番号：47 で表される塩基配列と配

列番号：48で表される塩基配列で挟まれる領域を増幅することで、5'末端未知領域を含む増幅断片を得た。未知領域の配列を配列番号：49に示す。この領域には、下流のSSP2遺伝子の翻訳枠で終始コドンも出現することから、配列番号：41で表されるSSP2遺伝子には、配列番号：40で表されるアミノ酸配列を有するタンパク質がコードされていることが明らかとなった。これらの情報から、配列番号：50で表される塩基配列と配列番号：51で表される塩基配列で挟まれる領域をPCRによって得た。配列番号：15で表される精巢発現型SSP2より、配列番号：52で表される塩基配列と配列番号：53で表される塩基配列で挟まれる領域をPCRによって取得し、上記のPCR産物とを制限酵素によって切断後にライゲーションし、これを鋳型として配列番号：50および配列番号：53でそれぞれ表されるプライマーとしたPCR反応により、脳発現型SSP2遺伝子全長を含む遺伝子を得た。全長遺伝子はpcDNA3.1(+)にサブクローニングし、プラスミドpTB2221を得た。得られたプラスミドpTB2221を自体公知の方法に従い大腸菌 (*Escherichia coli*) DH5 α に導入して、形質転換体：大腸菌 (*Escherichia coli*) DH5 α /pTB2221を得た。

実施例6 TaqMan PCRを用いた発現解析系の設定

SSP1のより詳細な発現解析を行うために、TaqMan PCR条件を設定した。用いたプライマーはUpper Primer (配列番号：54) とLower Primer (配列番号：55) で、検出に用いたプローブは配列番号：56に示した。TaqMan PCRには、TaqMan Universal MixtureとUpper Primer 250 nM, Lower Primer 250 nM, プローブ 75 nM, 及びテンプレートDNAを混合し、95℃ 15秒と60℃ 60秒の40サイクルのリアルタイムPCRによってSSP1遺伝子を定量した。典型的な検量線パターンを図3に示した。

SSP2のより詳細な発現解析を行うために、TaqMan PCR条件を設定した。用いたプライマーはUpper Primer (配列番号：57) とLower Primer (配列番号：58) で、検出に用いたプローブは配列番号：59に示した。TaqMan PCRには、TaqMan Universal MixtureとUpper Primer 250 nM, Lower Primer 250 nM, プローブ 75 nM, 及びテンプレートDNAを混合し、95℃ 15秒と60℃ 60秒の40サイクルのリアルタイムPCRによってSSP2遺伝子を定量した。典型的な検

量線パターンを図4に示した。

実施例7 TaqMan PCR法によるSSP1遺伝子発現組織特異性に関する検討

実施例6で作製したTaqMan PCRによるSSP1遺伝子発現定量系を用い、各種 Marathon Ready cDNA及び、HepG2細胞、Caco-2細胞より抽出したRNAをもとに、
5 oligo dTをプライマーとした逆転写反応によって得られたcDNAについてSSP1 mRNA発現量を定量した。結果を図5に示した。

実施例8 ノーザンブロットによるSSP1 mRNAの小腸部位特異的発現

配列番号：22で表されるcDNAをプローブとして用い、Multiple Tissue Northern Blots (CLONTECH)、Multiple Tissue Northern Blots II (CLONTECH)、
10 及びMultiple Tissue Northern Blots III (CLONTECH)に対してハイブリダイズすることにより、SSP1 mRNAの小腸組織内の部位特異性を解析した(図6)。図6に示す様に、SSP1は十二指腸、空腸に特異的に発現していることが判った。

実施例9 SSP1遺伝子の細胞内コレステロールレベルによる発現変化

HepG2細胞に図中に示した処理を1日間行い、RNAを抽出、oligo dTをプライ
15 マーとした逆転写反応を行い、実施例6で示したSSP1 mRNA発現量定量系を用いてSSP1 mRNAの発現量の変化を解析した。具体的にはHepG2細胞を24穴プレートに培養し、無血清D-MEM培地(serum free)、10% FBS存在下(10% FBS)、25-hydroxycholesterol 5 μ g/ml (25-OH)、ウサギ β VLDL 100 μ g-TC/ml (β VLDL)、Atrovastatin 1 μ M (ATOS)、5 mM hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP
20 β CD)、10 μ M progesterone (Progesterone)、及び100 μ M dibutyl-cyclic AMP (db-cAMP)の存在下に24時間インキュベートし、これらから抽出したRNA中のSSP1 mRNA発現量を内部標準として測定したGAPDH mRNAに対する割合(%)として求めた。結果を図7に示した。これらの結果からSSP1 mRNAはコレステロール負荷条件(β VLDL、25OH、10% FBS)で発現低下し、逆に無血清条件やさ
25 らにHP β CDによってコレステロールを減少せしめた条件では発現上昇した。これらの結果からSSP1 mRNAはステロールレベルによって発現制御を受けることが示された。

実施例10 TaqMan PCRによるSSP2遺伝子の神経系細胞株での神経芽細胞種特異的発現、IMR-32細胞での分化依存性発現誘導

IMR-32細胞を 2.5×10^5 cells/well (6 well plate) で一夜培養し、1mM dibutyl cyclic AMP (db-cAMP)、 $10 \mu\text{M}$ Bromo deoxyuridine (BrDU)、1mM db-cAMP/ $10 \mu\text{M}$ BrDU、及び分化誘導剤非添加の4種の条件で14日間培養を行った。7日目、14日目の各細胞からRNAを抽出後、TaqMan PCRにより SSP2 mRNA
5 の定量を行った。 $10 \mu\text{M}$ BrDUによって形態的にも神経細胞分化を遂げた細胞において SSP2 mRNA の発現誘導が認められた (図8)。

実施例 1 1 SSP1安定過剰発現型HepG2細胞の取得

HepG2細胞に SSP1遺伝子を pcDNA3.1 (+)-mycベクター (Invitrogen) にサブ
クローニングし、得られた C末端Mycタグ付加真核細胞発現用プラスミドを
10 HepG2細胞にリポフェクション法によりトランスフェクションし、500 ug/ml
G418存在下に培養を行い、G418耐性株を取得した。これらの細胞について
TaqMan PCRにより SSP1 mRNA の発現量を定量し、SSP1 mRNA安定高発現細胞4株
を取得した。これらの細胞の SSP1 mRNA 発現量を表に示す。また SSP1タンパク
のアミノ酸番号 33-273 をコードする遺伝子を pET 21 (+)ベクター
15 (Novagen) にサブクローニングし、大腸菌で産生した SSP1部分タンパクを抗
原として定法によりポリクローナル抗体を得た。抗原タンパクのアミノ酸配列
を配列番号 (抗原 AP-1) に示す。本抗体 (AP-1) を用いて SSP1安定発現細胞4
株の細胞抽出液中の SSP1タンパク発現を Western blotting法により検討した
結果、安定発現細胞の SSP1 mRNA レベルに相応し、SSP1タンパクの産生が認め
20 られた (図9および表1)。

〔表1〕

Copies % of GAPDH	MH5	MH15	MH17	MH18	Hep G2
mean	7.9	23.9	50.9	3.2	1.4
SD	0.5	2.8	3.0	0.3	0.2

実施例 1 2 SSP1安定過剰発現型HepG2細胞における ApoBリポタンパク分 25 泌の低下

上記で得られた安定発現細胞の24時間のApoBリポタンパク産生を親株の
HepG2細胞と比較した。ApoBリポタンパクの定量には抗ヒトapoBヤギポリク
ローナル抗体と抗ヒトapoBマウスモノクローナル抗体のサンドイッチEIA法を用

いた。定量にはヒトLDLを標準物質に用い、上清中に分泌されたApoBリポタンパク濃度をヒトLDL換算値で示した。その結果SSP1安定発現細胞でApoB産生分泌の低値が認められた。また、これらの細胞株では、オレイン酸添加によるapoBリポタンパク分泌の促進作用が消失していた（図10および表2）。

5 〔表2〕

Conditions				
1	5% LPDS			
2	5% LPDS	+	25-hydroxycholesterol	
3	5% LPDS	+	25-hydroxycholesterol	+ CI-976
4	5% LPDS	+	Atrvastatin	
5	5% LPDS	+	oleate (BSA complex)	
6	5% LPDS	+	β VLDL	
7	5% LPDS	+	25-hydroxycholesterol	β VLDL
8	Serum free			
9	5% FBS			

実施例13 SSP2 mRNAのアルツハイマー患者脳部位特異的発現誘導

TaqMan PCRを用いて正常人、アルツハイマー患者の脳各部位におけるSSP2 mRNA発現レベルを定量した。実験に用いた脳部位別cDNAはBioChain社より購入した。定量の結果、SSP2 mRNAは正常では小脳・海馬・扁桃体などの脳部位に局在的に発現しているのに対し、アルツハイマー患者脳では頭頂葉・後頭葉・側頭葉などの大脳半球各部位にも発現していた（図11）。

産業上の利用可能性

15 本発明のタンパク質はステロール感知能を有し、細胞内脂質の代謝・転送など生体内で何らかの重要な役割を果たしていることから、脂質代謝疾患に関連する種々の疾患、例えば、糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症または神経障害などの疾患（特に、動脈硬化症、高脂血症など）の予防・治療剤として用いることができ、該ステロール感知能を変化させる化合物のスクリーニング
20 に用いることもできる。

請求の範囲

1. 配列番号：16で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩。
- 5 2. 配列番号：17で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有する請求項1記載のタンパク質またはその塩。
3. 配列番号：34で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有する請求項1記載のタンパク質またはその塩。
4. 配列番号：35で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一の
- 10 アミノ酸配列を含有する請求項1記載のタンパク質またはその塩。
5. 配列番号：40で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有する請求項1記載のタンパク質またはその塩。
6. 配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタ
- 15 ンパク質またはその塩。
7. 配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第22番目～第1332番目のアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有する請求項6記載のタンパク質またはその塩。
8. ①請求項1記載のタンパク質または②配列番号：8で表わされるアミノ酸
- 20 配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質をコードする塩基配列を含有するDNAを含有するDNA。
9. ①配列番号：7で表される塩基配列の第64番目～第3999番目の塩基配列、②配列番号：15で表される塩基配列、③配列番号：32で表される塩
- 25 基配列、④配列番号：33で表される塩基配列または⑤配列番号：41で表される塩基配列を含有する請求項8記載のDNA。
10. 請求項8記載のDNAを含有する組換えベクター。
11. 請求項10記載の組換えベクターで形質転換された形質転換体。
12. 請求項11記載の形質転換体を培養し、該タンパク質を生成せしめるこ

とを特徴とする、①請求項 1 記載のタンパク質もしくは②配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38 で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質またはその塩の製造法。

- 5 13. ①請求項 1 記載のタンパク質または②配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、配列番号：38 で表わされるアミノ酸配列を含まないタンパク質またはその塩に対する抗体。
14. ①請求項 1 記載のタンパク質または②配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩を含有する医薬。
- 10 15. 請求項 8 記載の DNA を含有する医薬。
16. 糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤である請求項 14 または請求項 15 記載の医薬。
17. 請求項 8 記載の DNA または請求項 13 記載の抗体を含有してなる糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の診断剤。
- 15 18. ①請求項 1 記載のタンパク質または②配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩を用いることを特徴とする①請求項 1 記載のタンパク質もしくは②配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩の活性を促進または阻害する化合物またはその塩のスクリーニング方法。
- 20 19. ①請求項 1 記載のタンパク質もしくは②配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩を含有してなる、①請求項 1 記載のタンパク質もしくは②配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩の活性を促進または阻害する化合物またはその塩のスクリーニング用キット。
- 25 20. 請求項 18 記載のスクリーニング方法または請求項 19 記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、①請求項 1 記載のタンパク質もしくは②

配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩の活性を促進または阻害する化合物またはその塩。

- 2 1. 請求項 1 8 記載のスクリーニング方法または請求項 1 9 記載のスクリー
5 ニング用キットを用いて得られうる、①請求項 1 記載のタンパク質もしくは②
配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ
酸配列を含有するタンパク質またはその塩の活性を促進または阻害する化合
物またはその塩を含有してなる医薬。

- 2 2. 請求項 1 8 記載のスクリーニング方法または請求項 1 9 記載のスクリー
10 ニング用キットを用いて得られうる、①請求項 1 記載のタンパク質もしくは②
配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ
酸配列を含有するタンパク質またはその塩の活性を促進する化合物またはそ
の塩を含有してなる糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患
または神経障害の予防・治療剤。

- 15 2 3. ①請求項 1 記載のタンパク質もしくは②配列番号：8 で表わされるアミ
ノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質
またはその塩を用いることを特徴とする、①請求項 1 記載のタンパク質もし
くは②配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一の
アミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩のステロール感知能を変化さ
20 せる化合物またはその塩のスクリーニング方法。

- 2 4. ①請求項 1 記載のタンパク質もしくは②配列番号：8 で表わされるアミ
ノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質
またはその塩を含有することを特徴とする、①請求項 1 記載のタンパク質もし
くは②配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一の
25 アミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩のステロール感知能を変化
させる化合物またはその塩のスクリーニング用キット。

2 5. 請求項 2 3 記載のスクリーニング方法または請求項 2 4 記載のスクリー
ニング用キットを用いて得られうる、①請求項 1 記載のタンパク質もしくは②
配列番号：8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ

酸配列を含有するタンパク質またはその塩のステロール感知能を変化させる化合物またはその塩。

26. 請求項23記載のスクリーニング方法または請求項24記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、①請求項1記載のタンパク質もしくは②
- 5 配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩のステロール感知能を変化させる化合物またはその塩を含有してなる医薬。

27. 請求項23記載のスクリーニング方法または請求項24記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、①請求項1記載のタンパク質もしくは②
- 10 配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩のステロール感知能を増強させる化合物またはその塩を含有してなる糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤。

28. 請求項8記載のDNAまたはその一部を用いることを特徴とする①請求
- 15 項1記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質のmRNAの定量方法。

29. 請求項13記載の抗体を用いることを特徴とする①請求項1記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質の定量方法。
- 20

30. 請求項28または請求項29記載の定量方法を用いることを特徴とする、①請求項1記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質の機能が関連する疾患の診断方法。

- 25 31. 請求項28記載の定量方法を用いることを特徴とする、①請求項1記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質の発現量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法。

32. 請求項31記載のスクリーニング方法を用いて得られうる、①請求項1

記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質の発現量を変化させる化合物またはその塩。

33. 請求項31記載のスクリーニング方法を用いて得られうる、①請求項1
5 記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質の発現量を変化させる化合物またはその塩を含有してなる医薬。

34. 請求項31記載のスクリーニング方法を用いて得られうる、①請求項1
10 記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質の発現量を増加させる化合物またはその塩を含有してなる糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤。

35. 請求項29記載の定量方法を用いることを特徴とする、細胞内の①請求
15 項1記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質のタンパク質量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法。

36. 請求項35記載のスクリーニング方法を用いて得られうる、細胞内における①請求項1記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質の
20 タンパク質量を変化させる化合物またはその塩。

37. 請求項35記載のスクリーニング方法を用いて得られうる、細胞内における①請求項1記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質の
タンパク質量を変化させる化合物またはその塩を含有してなる医薬。

- 25 38. 請求項35載のスクリーニング方法を用いて得られうる、細胞内における①請求項1記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質のタンパク質量を増加させる化合物またはその塩を含有してなる糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症または神経障害の予防・治療剤。

39. SSD含有タンパク質に働いて細胞内コレステロール輸送調節作用を有する化合物またはその塩を含有してなる糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤。

40. 哺乳動物に対して、①請求項1記載のタンパク質または②配列番号：8
5 で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩の有効量を投与することを特徴とする糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療方法。

41. 哺乳動物に対して、請求項8記載のDNAの有効量を投与することを特
10 徴とする糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療方法。

42. 哺乳動物に対して、請求項18記載のスクリーニング方法または請求項
19記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、①請求項1記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実
15 質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩の活性を促進する化合物またはその塩の有効量を投与することを特徴とする糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療方法。

43. 哺乳動物に対して、請求項23記載のスクリーニング方法または請求項
24記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、①請求項1記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実
20 質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩のステロール感知能を増強させる化合物またはその塩の有効量を投与することを特徴とする糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療方法。

44. 哺乳動物に対して、請求項31記載のスクリーニング方法を用いて得られ
25 うる、①請求項1記載のタンパク質もしくは②配列番号：8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質の発現量を増加させる化合物またはその塩の有効量を投与することを特徴とする糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障

害の予防・治療方法。

45. 哺乳動物に対して、SSD含有タンパク質に働いて細胞内コレステロール輸送調節作用を有する化合物またはその塩の有効量を投与することを特徴とする糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障

5 害の予防・治療方法。

46. 糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤を製造するための①請求項1記載のタンパク質または②配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩の使用。

10 47. 糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤を製造するための請求項8記載のDNAの使用。

48. 糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤を製造するための請求項18記載のスクリーニング方法または請求項19記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、①請求項1

15 記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩の活性を促進する化合物またはその塩の使用。

49. 糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤を製造するための哺乳動物に対して、請求項23記載のスク

20 リーニング方法または請求項24記載のスクリーニング用キットを用いて得られうる、①請求項1記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質またはその塩のステロール感知能を増強させる化合物またはその塩の使用。

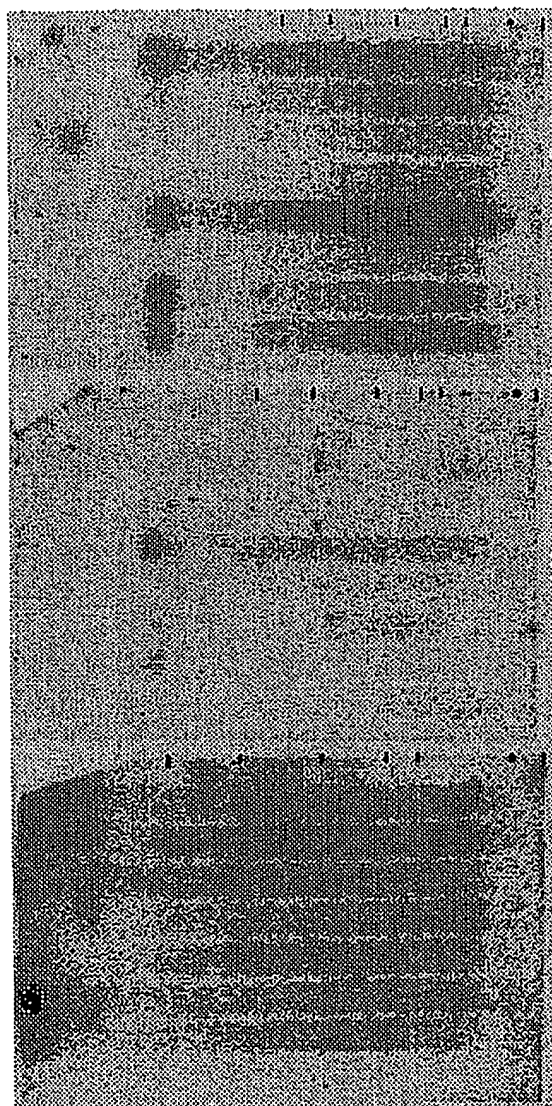
25 50. 糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤を製造するための請求項31記載のスクリーニング方法を用いて得られうる、①請求項1記載のタンパク質もしくは②配列番号: 8で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質の発現量を増加させる化合物またはその塩の使用。

5 1. 糖尿病、肥満、癌、動脈硬化症、高脂血症、神経変性疾患または神経障害の予防・治療剤を製造するためのSSD含有タンパク質に働いて細胞内コレステロール輸送調節作用を有する化合物またはその塩の使用。

1/11

1

9.5 kb
7.5
4.4
2.4
1.35



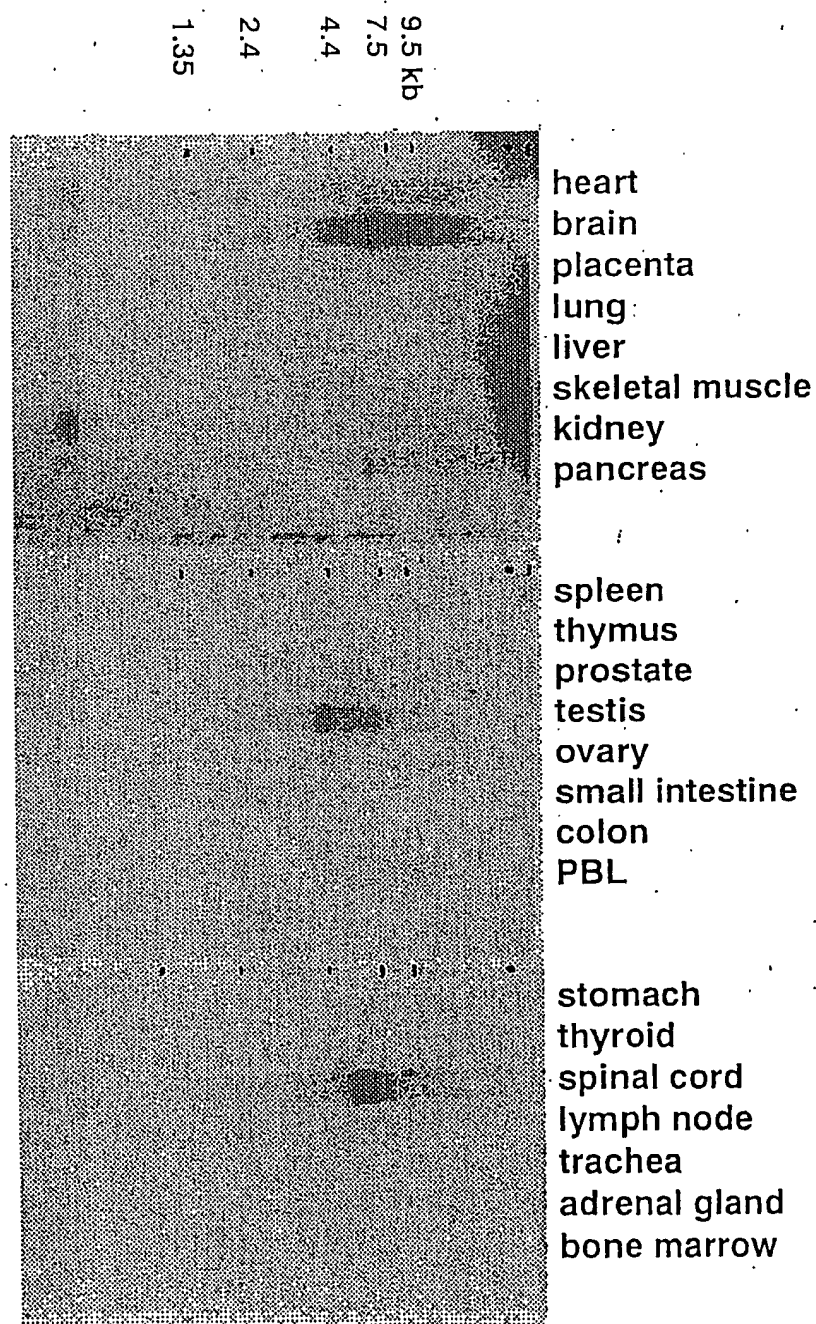
heart
brain
placenta
lung
liver
skeletal muscle
kidney
pancreas

spleen
thymus
prostate
testis
ovary
small intestine
colon
PBL

stomach
thyroid
spinal cord
lymph node
trachea
adrenal gland
bone marrow

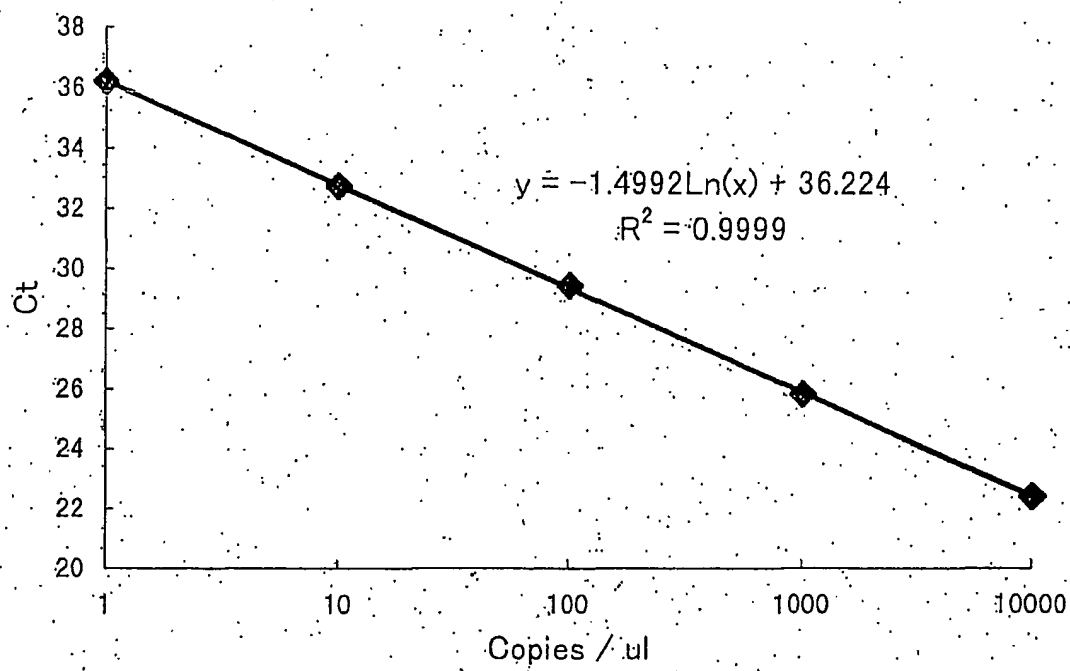
2/11

2



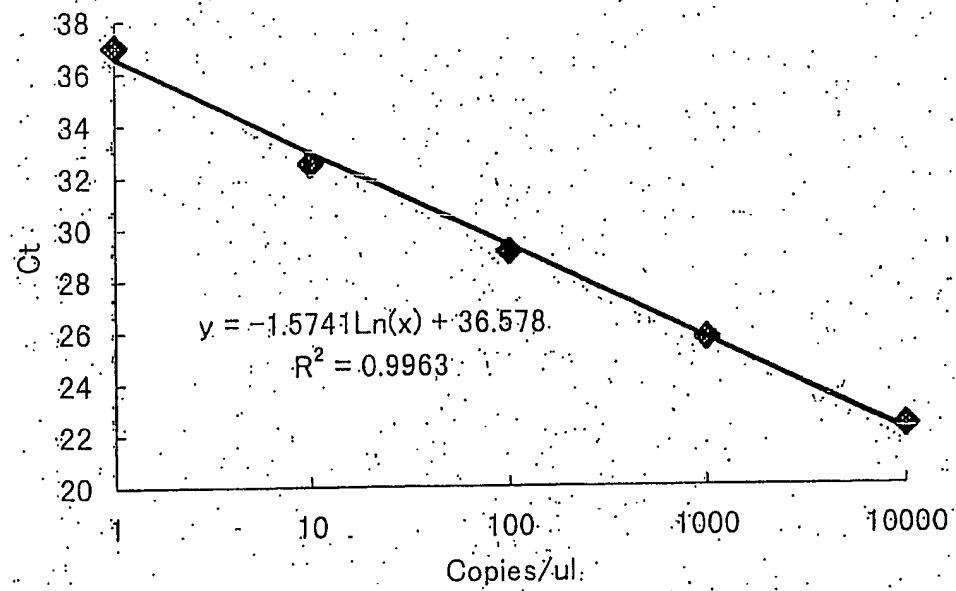
3/11

図 3



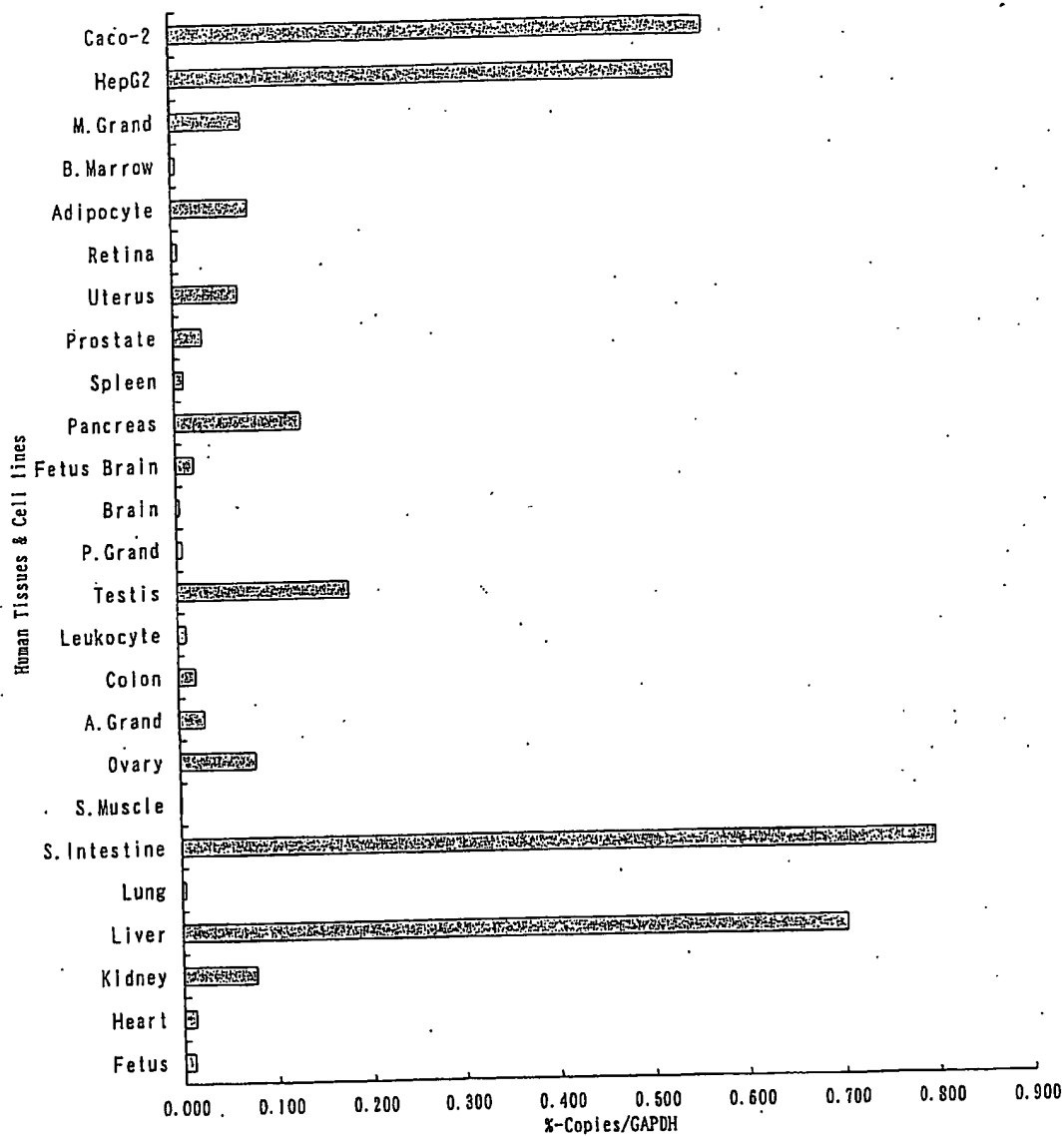
4/11

Figure 4



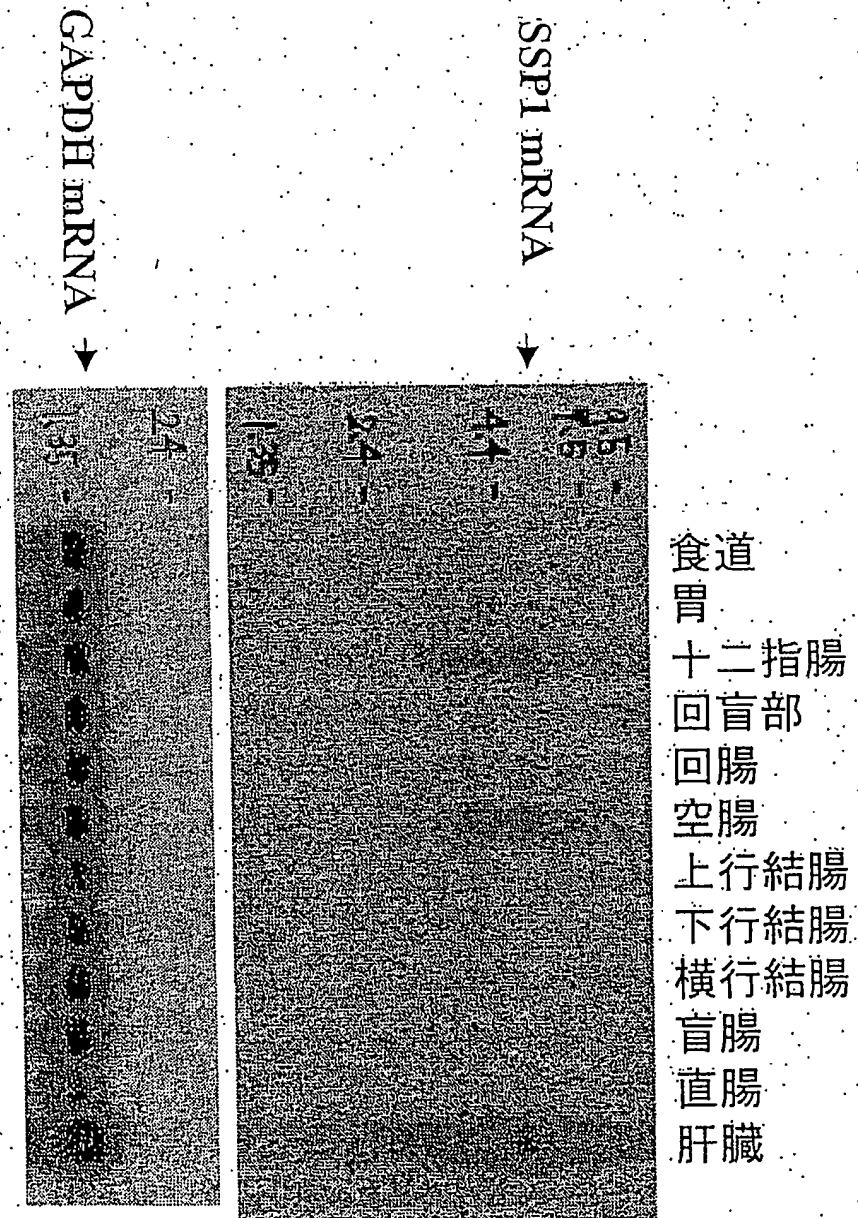
5/11

5



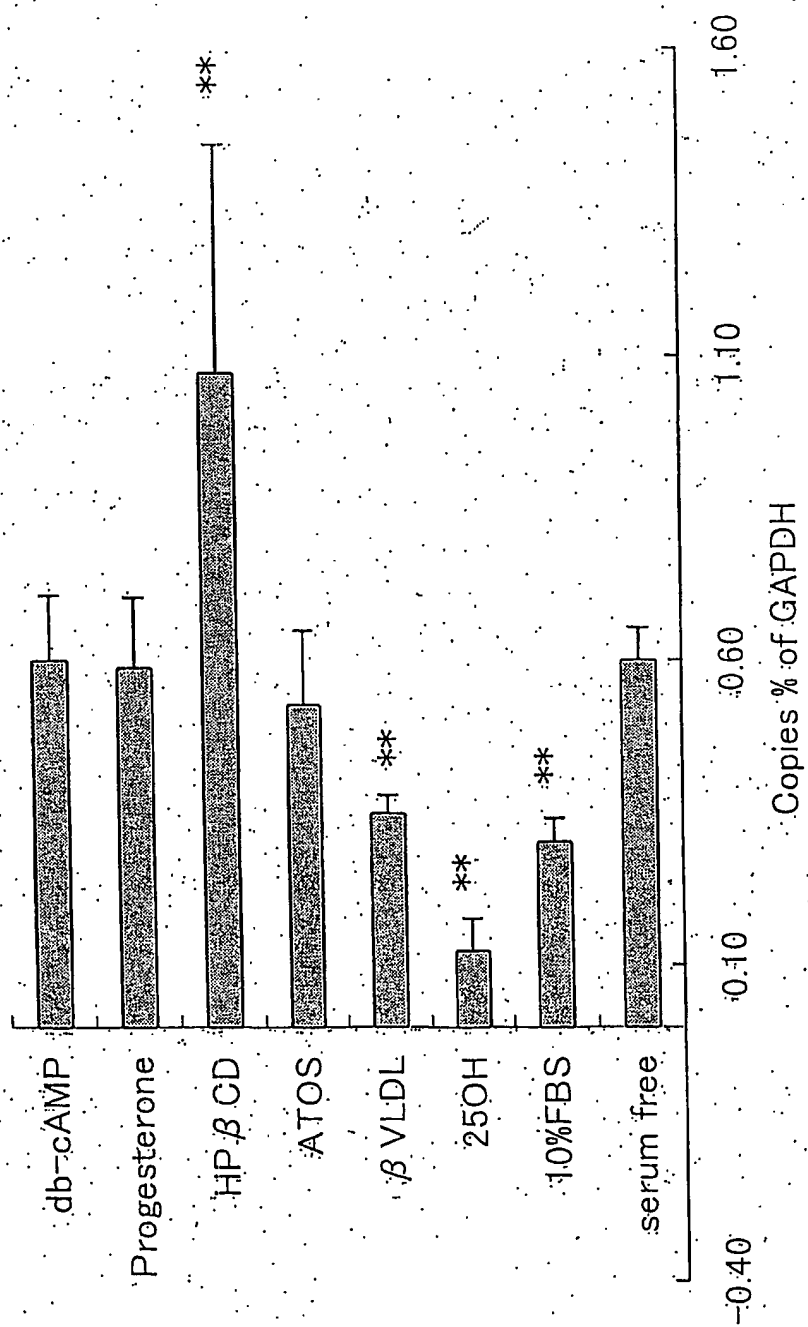
6/11

図 6



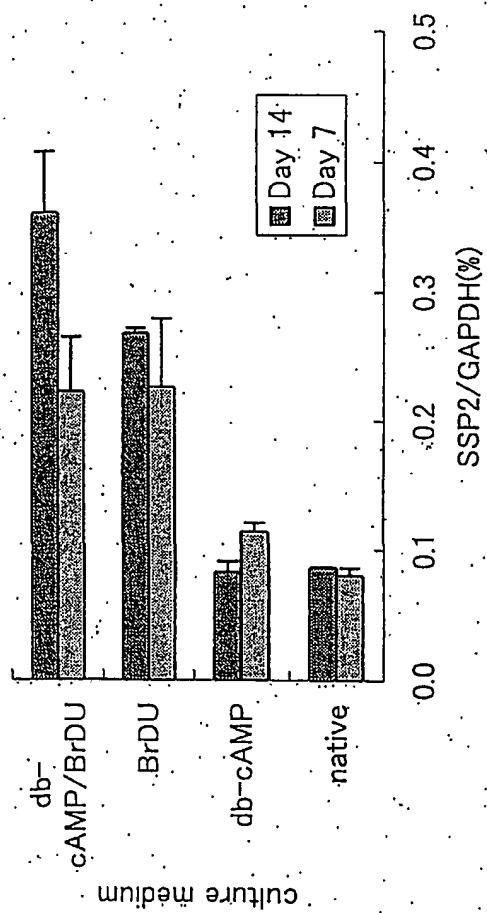
7/11

7



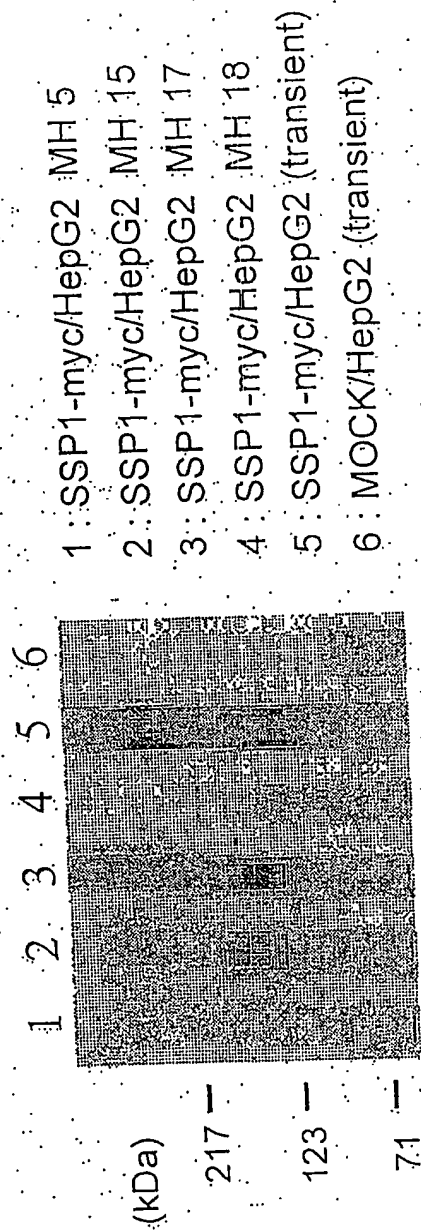
8/11

8



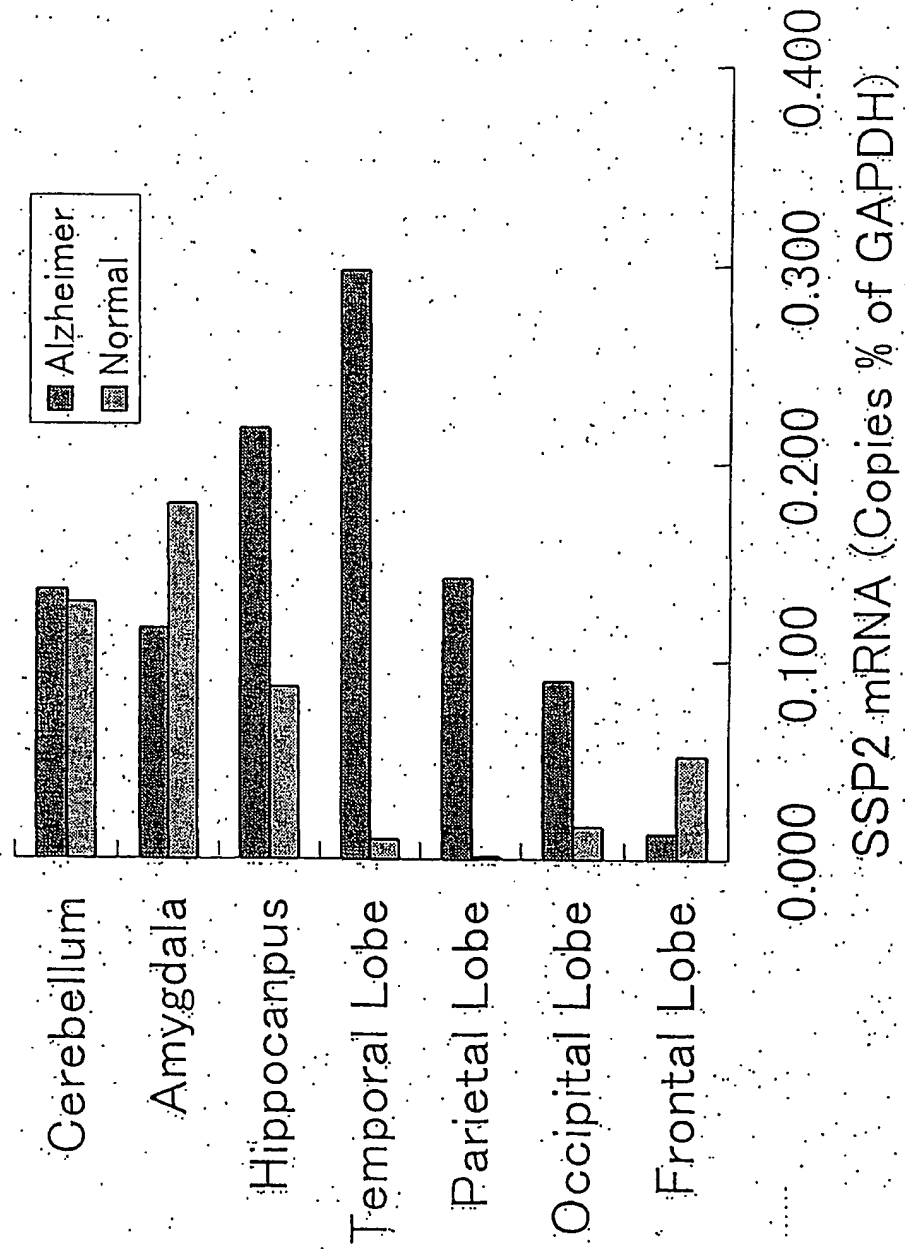
9/11

☒ 0



11/11

1 1



SEQUENCE LISTING

<110> Takeda Chemical Industries, Ltd.

<120> Novel Protein, its production and use

<130> 2703W00P

<150> JP2000-088595

<151> 2000-03-24

<160> 59

<210> 1

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 1

ccagtcaggc cagggttgtc a

21

<210> 2

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 2

cacacggctg caggagtc at ag

22

<210> 3

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 3

ccctacacc ggccccaaca c

21

<210> 4

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 4

gggcccctag gaagaagcag at

22

<210> 5

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 5

ccatgggcctt ctctcctac ttg

23

<210> 6

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 6

icaaggggca gtcacaagga agat

24

<210> 7

<211> 3999

<212> DNA

<213> Human

<400> 7

```

atggcggagg ccggcctgag gggctggctg ctgtgggccc tgctcctgcg cttggcccag 60
agtgagcctt acacaaccat ccaccagcct ggctactgcg ccttctaiga cgaatgtggg 120
aagaaccag agctgtcttg aagcctcatg acacttcca acgigtctg cctgtccaac 180
acgccggccc gcaagatcac aggtgatcac ctgatectat tacagaagat ctgccccgc 240
ctctacaccg gcccacaac ccaagcctgc tgctccgcca agcagctggt atcactggaa 300
gcgagtctgt cgatcaccaa ggccctctc acccgctgcc cagcctgctc tgacaatttt 360
gigaacctgc actgccaaa cacgtgcagc cccaatcaga gcctcttcat caatgtgacc 420
cgcgtggccc agctaggggc tggacaactc ccagctgtgg tggcctatga ggccttctac 480
cagcatagct ttgccgagca gagctatgac tctgcagcc gtgtgcgcgt cctgcagct 540
gccacgctgg ctgtgggcac catgtgtggc gtgtatggct ctgcccittg caatgcccag 600

```

cgctggctca acttccaggg agacacaggc aatgggtctgg cccacttga catcaccttc 660
cacctcttgg agcctggcca ggccgtgggg agtgggattc agcctctgaa tgaggggggtt 720
gcacgttgca atgagtccca aggtgacgac gtggcgacct gctcctgcca agactgtgct 780
gcatcctgtc ctgcatagc ccgccccag gccctcgact ccaccttcta cctgggccag 840
atgccgggca gtctggctct catcatcatc ctctgtcttg tcttcgtgtt ggtaccatc 900
ctgtcttggg gattccgtgt ggccccgcc agggacaaaa gcaagatgtt ggacccaag 960
aagggcacca gccctctga caagtcagc ttctccacc acaccttctt tggccagttc 1020
ttccagggtt ggggcacgtg ggtggcttcg tggcctctga ccatcttgtt gctatctgtc 1080
atcccgggtg tggccttggc agcgggctg gtctttacag aactcactac ggaccccggtg 1140
gagctgttgt cggccccaa cagccaagcc cggagtgaga aagctttcca tgaccagcat 1200
ttcggccctt tcttcgaac caaccagggt atcctgacgg ctcttaaccg gtccagctac 1260
aggtatgact ctctgtgct ggggccaag aacttcagcg gaatcctgga cctggacttg 1320
ctgtcggagc tctagagct gcaggagagg ctgcggcacc tccaggtatg gtgcgccgaa 1380
gcacagcgca acatctcct gcaggacatc tgctacgcc cctcaatcc ggacaatacc 1440
agtctctacg actgtgcat caacagctc ctgcagtatt tccagaacaa ccgcacgctc 1500
ctgtctctca cagccaacca gacactgat gggcagacct cccaagtga ctggaaggac 1560
cattttctgt actgtgcaa tggccgctc accttaagg atggcacagc cctggccctg 1620
agctgcatgg ctgactacgg ggccctgtc ttcccttcc ttgccattgg ggggtacaaa 1680
ggaaaggact attctgagc agaggccctg atcatgacgt tctccctcaa caattacct 1740
gccggggacc cccgtctggc ccaggccaag ctgtgggagg aggccttctt agaggaaatg 1800
cgagccttcc agcgtcggat ggctggcatg ttccaggtea cgttcattggc tgagcgctct 1860
ctggaagacg agatcaatc caccacagct gaagacctgc ccatctttgc caccagctac 1920
attgtcatat tctgtacat ctctctggcc ctgggcagct attccagctg gagccgagtg 1980

aiggtggact ccaaggccac gctgggcctc ggcggggtgg ccgtggctct gggagcagtc 2040
aiggtgcca tgggtttctt ctctacttg ggtatccgt cctccctggt catctgcaa 2100
gtggttctt tcttggtgct gtccgtgggg gcigataaca tcttcattt tgttctcgag 2160
taccagaggc tggcccggag gcctggggag ccacgagagg tccacattgg gcgagcccta 2220
ggcaggggtg ctcccagcat gctgttgctc agcctctctg aggccatctg ctcttctta 2280
ggggccctga ccccaigcc agctgtgcgg accttgccc tgacctctgg ccttgcaagt 2340
atccttgact tctctcgca gatgtcagcc ttgttgccc tgccttccct ggacagcaag 2400
aggcaggagg cctcccgtt ggacgtctgc tgcgtgtca agccccagga gctgccccg 2460
cctggccagg gagaggggt cctgcttggc ttcttccaaa agccttatgc ccccttctg 2520
ctgcactgga tctctgagg tgttgtctg ctgctgttc tgcctgtt cggagtgagc 2580
ctctactcca tgtgccacat cagcgtggga ctggaccagg agctggccct gccaaggac 2640
tcgtacctgc ttgactattt cctcttctg aaccgtact tcgaggtggg ggccccggtg 2700
tactttgta ccacctggg ctacaactc tccagcagg ctgggatgaa tgccatctgc 2760
tccagtgcag gctgcaaaa ctctctctc accagaaga tccagtatgc cacagagttc 2820
cctgagcagt ctacctggc catccctgcc tctctctggg tggatgacti catgactgg 2880
ctgacccct cctcctgctg ccgctttat atatctggc ccaataagga caagtctgc 2940
ccctcgaccg tcaactctt gaactgcct aagaactgca tgagcatcac gatgggtct 3000
gtgaggccct cgtggagca gtccataag tatcttccct ggttctgaa cgaccggccc 3060
aacatcaat gtccaaagg cggcctggca gcatacaga cctctgtgaa ctgacttca 3120
gatggccagg ttttagctc caggttcatg gcctatcaca agccctgaa aaactcacag 3180
gattacacag aagctctgcg ggcagctga gagctggcag ccaacatcac tgcigacctg 3240
cggaaagtc ctggaacaga cccggctttt gaggtcttcc cctacagat caccaatgtg 3300
tttatgagc agtacctgac catcttccct gaggggtct tcatgctcag cctctgcctt 3360

gtgcccacct tgcctgtctc ctgcctcctg ctgggcctgg acctgcgctc cggccctctc 3420
 aacctgtctt ccattgtcat gatcctcgtg gacactgtcg gcttcatggc cctgtggggc 3480
 atcagttaca atgctgtgtc cctcatcaac ctggctcctg cggtagggcat gtctgtggag 3540
 tttgtgtccc acattaccg ctcctttggc atcagcacca agcccacctg gctggagagg 3600
 gccaaagagg ccaccatctc tatgggaagt gcggtgtttg cagggtgtggc catgaccaac 3660
 ctgcctggca tcttgtcct gggcctcgcc aaggcccagc tcattcagat ctctctcttc 3720
 cgctcaacc tctgatcac tctgtgggc ctgctgcatg gcttggcttt cctgccgtc 3780
 atcctcagct acgtggggcc tgacgttaac ccggtcttgg cactggagca gaagcgggct 3840
 gaggaggcgg tggcagcagt catggtggcc tcttgcccaa atcacccctc ccgagctctc 3900
 acagctgaca acatctatgt caaccacagc tttaagggt ctatcaaagg tctgtgtgcc 3960
 atcagcaact tcttgcccaa caatgggcgg cagtctga 3999

<210> 8

<211> 194

<212> PRT

<213> Human

<400> 8

Phe Met Ala Glu Arg Ser Leu Glu Asp Glu Ile Asn Arg Thr Thr Ala

5

10

15

Glu Asp Leu Pro Ile Phe Ala Thr Ser Tyr Ile Val Ile Phe Leu Tyr

20

25

30

Ile Ser Leu Ala Leu Gly Ser Tyr Ser Ser Trp Ser Arg Val Met Val

35

40

45

Asp Ser Lys Ala Thr Leu Gly Leu Gly Gly Val Ala Val Val Leu Gly

7/59

50 55 60
Ala Val Met Ala Ala Met Gly Phe Phe Ser Tyr Leu Gly Ile Arg Ser
65 70 75 80
Ser Leu Val Ile Leu Gln Val Val Pro Phe Leu Val Leu Ser Val Gly
85 90 95
Ala Asp Asn Ile Phe Ile Phe Val Leu Glu Tyr Gln Arg Leu Pro Arg
100 105 110
Arg Pro Gly Glu Pro Arg Glu Val His Ile Gly Arg Ala Leu Gly Arg
115 120 125
Val Ala Pro Ser Met Leu Leu Cys Ser Leu Ser Glu Ala Ile Cys Phe
130 135 140
Phe Leu Gly Ala Leu Thr Pro Met Pro Ala Val Arg Thr Phe Ala Leu
145 150 155 160
Thr Ser Gly Leu Ala Val Ile Leu Asp Phe Leu Leu Gln Met Ser Ala
165 170 175
Phe Val Ala Leu Leu Ser Leu Asp Ser Lys Arg Gln Glu Ala Ser Arg
180 185 190
Leu Asp

<210> 9

<211> 1332

<212> PRT

<213> Human

<400> 9

Met Ala Glu Ala Gly Leu Arg Gly Trp Leu Leu Trp Ala Leu Leu Leu
5 10 15
Arg Leu Ala Gln Ser Glu Pro Tyr Thr Thr Ile His Gln Pro Gly Tyr
20 25 30
Cys Ala Phe Tyr Asp Glu Cys Gly Lys Asn Pro Glu Leu Ser Gly Ser
35 40 45
Leu Met Thr Leu Ser Asn Val Ser Cys Leu Ser Asn Thr Pro Ala Arg
50 55 60
Lys Ile Thr Gly Asp His Leu Ile Leu Leu Gln Lys Ile Cys Pro Arg
65 70 75 80
Leu Tyr Thr Gly Pro Asn Thr Gln Ala Cys Cys Ser Ala Lys Gln Leu
85 90 95
Val Ser Leu Glu Ala Ser Leu Ser Ile Thr Lys Ala Leu Leu Thr Arg
100 105 110
Cys Pro Ala Cys Ser Asp Asn Phe Val Asn Leu His Cys His Asn Thr
115 120 125
Cys Ser Pro Asn Gln Ser Leu Phe Ile Asn Val Thr Arg Val Ala Gln
130 135 140
Leu Gly Ala Gly Gln Leu Pro Ala Val Val Ala Tyr Glu Ala Phe Tyr
145 150 155 160
Gln His Ser Phe Ala Glu Gln Ser Tyr Asp Ser Cys Ser Arg Val Arg
165 170 175
Val Pro Ala Ala Ala Thr Leu Ala Val Gly Thr Met Cys Gly Val Tyr

9/59

180	185	190	
Gly Ser Ala Leu Cys Asn Ala Gln Arg Trp Leu Asn Phe Gln Gly Asp			
195	200	205	
Thr Gly Asn Gly Leu Ala Pro Leu Asp Ile Thr Phe His Leu Leu Glu			
210	215	220	
Pro Gly Gln Ala Val Gly Ser Gly Ile Gln Pro Leu Asn Glu Gly Val			
225	230	235	240
Ala Arg Cys Asn Glu Ser Gln Gly Asp Asp Val Ala Thr Cys Ser Cys			
245	250	255	
Gln Asp Cys Ala Ala Ser Cys Pro Ala Ile Ala Arg Pro Gln Ala Leu			
260	265	270	
Asp Ser Thr Phe Tyr Leu Gly Gln Met Pro Gly Ser Leu Val Leu Ile			
275	280	285	
Ile Ile Leu Cys Ser Val Phe Ala Val Val Thr Ile Leu Leu Val Gly			
290	295	300	
Phe Arg Val Ala Pro Ala Arg Asp Lys Ser Lys Met Val Asp Pro Lys			
305	310	315	320
Lys Gly Thr Ser Leu Ser Asp Lys Leu Ser Phe Ser Thr His Thr Leu			
325	330	335	
Leu Gly Gln Phe Phe Gln Gly Trp Gly Thr Trp Val Ala Ser Trp Pro			
340	345	350	
Leu Thr Ile Leu Val Leu Ser Val Ile Pro Val Val Ala Leu Ala Ala			
355	360	365	

10/59

Gly Leu Val Phe Thr Glu Leu Thr Thr Asp Pro Val Glu Leu Trp Ser
370 375 380

Ala Pro Asn Ser Gln Ala Arg Ser Glu Lys Ala Phe His Asp Gln His
385 390 395 400

Phe Gly Pro Phe Phe Arg Thr Asn Gln Val Ile Leu Thr Ala Pro Asn
405 410 415

Arg Ser Ser Tyr Arg Tyr Asp Ser Leu Leu Leu Gly Pro Lys Asn Phe
420 425 430

Ser Gly Ile Leu Asp Leu Asp Leu Leu Leu Glu Leu Leu Glu Leu Gln
435 440 445

Glu Arg Leu Arg His Leu Gln Val Trp Ser Pro Glu Ala Gln Arg Asn
450 455 460

Ile Ser Leu Gln Asp Ile Cys Tyr Ala Pro Leu Asn Pro Asp Asn Thr
465 470 475 480

Ser Leu Tyr Asp Cys Cys Ile Asn Ser Leu Leu Gln Tyr Phe Gln Asn
485 490 495

Asn Arg Thr Leu Leu Leu Leu Thr Ala Asn Gln Thr Leu Met Gly Gln
500 505 510

Thr Ser Gln Val Asp Trp Lys Asp His Phe Leu Tyr Cys Ala Asn Ala
515 520 525

Pro Leu Thr Phe Lys Asp Gly Thr Ala Leu Ala Leu Ser Cys Met Ala
530 535 540

Asp Tyr Gly Ala Pro Val Phe Pro Phe Leu Ala Ile Gly Gly Tyr Lys

11/59

545 550 555 560
Gly Lys Asp Tyr Ser Glu Ala Glu Ala Leu Ile Met Thr Phe Ser Leu
565 570 575
Asn Asn Tyr Pro Ala Gly Asp Pro Arg Leu Ala Gln Ala Lys Leu Trp
580 585 590
Glu Glu Ala Phe Leu Glu Glu Met Arg Ala Phe Gln Arg Arg Met Ala
595 600 605
Gly Met Phe Gln Val Thr Phe Met Ala Glu Arg Ser Leu Glu Asp Glu
610 615 620
Ile Asn Arg Thr Thr Ala Glu Asp Leu Pro Ile Phe Ala Thr Ser Tyr
625 630 635 640
Ile Val Ile Phe Leu Tyr Ile Ser Leu Ala Leu Gly Ser Tyr Ser Ser
645 650 655
Trp Ser Arg Val Met Val Asp Ser Lys Ala Thr Leu Gly Leu Gly Gly
660 665 670
Val Ala Val Val Leu Gly Ala Val Met Ala Ala Met Gly Phe Phe Ser
675 680 685
Tyr Leu Gly Ile Arg Ser Ser Leu Val Ile Leu Gln Val Val Pro Phe
690 695 700
Leu Val Leu Ser Val Gly Ala Asp Asn Ile Phe Ile Phe Val Leu Glu
705 710 715 720
Tyr Gln Arg Leu Pro Arg Arg Pro Gly Glu Pro Arg Glu Val His Ile
725 730 735

12/59

Gly Arg Ala Leu Gly Arg Val Ala Pro Ser Met Leu Leu Cys Ser Leu
740 745 750
Ser Glu Ala Ile Cys Phe Phe Leu Gly Ala Leu Thr Pro Met Pro Ala
755 760 765
Val Arg Thr Phe Ala Leu Thr Ser Gly Leu Ala Val Ile Leu Asp Phe
770 775 780
Leu Leu Gln Met Ser Ala Phe Val Ala Leu Leu Ser Leu Asp Ser Lys
785 790 795 800
Arg Gln Glu Ala Ser Arg Leu Asp Val Cys Cys Cys Val Lys Pro Gln
805 810 815
Glu Leu Pro Pro Pro Gly Gln Gly Glu Gly Leu Leu Leu Gly Phe Phe
820 825 830
Gln Lys Ala Tyr Ala Pro Phe Leu Leu His Trp Ile Thr Arg Gly Val
835 840 845
Val Leu Leu Leu Phe Leu Ala Leu Phe Gly Val Ser Leu Tyr Ser Met
850 855 860
Cys His Ile Ser Val Gly Leu Asp Gln Glu Leu Ala Leu Pro Lys Asp
865 870 875 880
Ser Tyr Leu Leu Asp Tyr Phe Leu Phe Leu Asn Arg Tyr Phe Glu Val
885 890 895
Gly Ala Pro Val Tyr Phe Val Thr Thr Leu Gly Tyr Asn Phe Ser Ser
900 905 910
Glu Ala Gly Met Asn Ala Ile Cys Ser Ser Ala Gly Cys Asn Asn Phe

915 920 925
Ser Phe Thr Gln Lys Ile Gln Tyr Ala Thr Glu Phe Pro Glu Gln Ser
930 935 940
Tyr Leu Ala Ile Pro Ala Ser Ser Trp Val Asp Asp Phe Ile Asp Trp
945 950 955 960
Leu Thr Pro Ser Ser Cys Cys Arg Leu Tyr Ile Ser Gly Pro Asn Lys
965 970 975
Asp Lys Phe Cys Pro Ser Thr Val Asn Ser Leu Asn Cys Leu Lys Asn
980 985 990
Cys Met Ser Ile Thr Met Gly Ser Val Arg Pro Ser Val Glu Gln Phe
995 1000 1005
His Lys Tyr Leu Pro Trp Phe Leu Asn Asp Arg Pro Asn Ile Lys Cys
1010 1015 1020
Pro Lys Gly Gly Leu Ala Ala Tyr Ser Thr Ser Val Asn Leu Thr Ser
1025 1030 1035 1040
Asp Gly Gln Val Leu Ala Ser Arg Phe Met Ala Tyr His Lys Pro Leu
1045 1050 1055
Lys Asn Ser Gln Asp Tyr Thr Glu Ala Leu Arg Ala Ala Arg Glu Leu
1060 1065 1070
Ala Ala Asn Ile Thr Ala Asp Leu Arg Lys Val Pro Gly Thr Asp Pro
1075 1080 1085
Ala Phe Glu Val Phe Pro Tyr Thr Ile Thr Asn Val Phe Tyr Glu Gln
1090 1095 1100

14/59

Tyr Leu Thr Ile Leu Pro Glu Gly Leu Phe Met Leu Ser Leu Cys Leu
1105 1110 1115 1120
Val Pro Thr Phe Ala Val Ser Cys Leu Leu Leu Gly Leu Asp Leu Arg
1125 1130 1135
Ser Gly Leu Leu Asn Leu Leu Ser Ile Val Met Ile Leu Val Asp Thr
1140 1145 1150
Val Gly Phe Met Ala Leu Trp Gly Ile Ser Tyr Asn Ala Val Ser Leu
1155 1160 1165
Ile Asn Leu Val Ser Ala Val Gly Met Ser Val Glu Phe Val Ser His
1170 1175 1180
Ile Thr Arg Ser Phe Ala Ile Ser Thr Lys Pro Thr Trp Leu Glu Arg
1185 1190 1195 1200
Ala Lys Glu Ala Thr Ile Ser Met Gly Ser Ala Val Phe Ala Gly Val
1205 1210 1215
Ala Met Thr Asn Leu Pro Gly Ile Leu Val Leu Gly Leu Ala Lys Ala
1220 1225 1230
Gln Leu Ile Gln Ile Phe Phe Phe Arg Leu Asn Leu Leu Ile Thr Leu
1235 1240 1245
Leu Gly Leu Leu His Gly Leu Val Phe Leu Pro Val Ile Leu Ser Tyr
1250 1255 1260
Val Gly Pro Asp Val Asn Pro Ala Leu Ala Leu Glu Gln Lys Arg Ala
1265 1270 1275 1280
Glu Glu Ala Val Ala Ala Val Met Val Ala Ser Cys Pro Asn His Pro

15/59

1285 1290 1295
Ser Arg Val Ser Thr Ala Asp Asn Ile Tyr Val Asn His Ser Phe Glu
1300 1305 1310
Gly Ser Ile Lys Gly Ala Gly Ala Ile Ser Asn Phe Leu Pro Asn Asn
1315 1320 1325
Gly Arg Gln Phe

1330

<210> 10

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 10

aaggcggcca ccccatcag gat

23

<210> 11

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 11

tatgaagtgc gcaggacgtt

20

<210> 12

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 12

tgccgggcagg ggaatctta

19

<210> 13

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 13

cttcttctgc atcatcgccc catttg

26

<210> 14

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 14

ccaaaggatgc aagtgtccag ag

22

<210> 15

<211> 3264

<212> DNA

<213> Human

<400> 15

atggaccacc caggcttccg ggagttctgc tggagcccc acgagggtgct caaggatctg 60
ccgctgggct cctactccta ctgctcgccc cccagctcgc tcatgacctt ctttttcc 120
accgagaggg gcggcaagat ctactatgac ggcatgggcc aggacctggc ggacatccgg 180
ggctcccctg agctggccat gactcacctt gagtctact ggtatgtgga tgagggcctc 240
tctgcagaca atctgaagag ctccctccctg cgcagtgaga tcctgtttgg agcaccctg 300
cccaactact actcagtaga tgaccgtgga gaggaacaac gggctaagtt tcagagcttc 360
giggtcacct acgtggccat gctggccaag cagtctacca gcaaagtcca ggttctctat 420
ggggggacag acctgtttga ctatgaagtg cgcaggacgt tcaacaatga catgctcctg 480
gccttcacat gcagcagctg cattgtctgc ctggtctaca tcttcacctc ctgctcagtg 540
ttctgtcct tctttgggat tgccagcatt ggtctcagct gcctgggtggc cctcttcctg 600
taccacgtgg tctttgggat ccagtacttg ggcatcctga atgggggtggc cgccttcgtg 660
atcgtgggca ttgggtgga cgatgtcttt gtgttcacat acacctaccg ccaggccacc 720
cacctggaag acccacagct gcgcatgac cacaccgtcc aaactgcagg caaggccacc 780
ttcttcacct cctgaccac agccgccgcc tacgcagcta acgtcttctc ccagatccca 840
gccgtccacg actttggcct gttcattgtc ctatcgtgt cctgttgctg gctggccgtg 900
ctgttcacca tgccgcagc tctgggcctc tggagcctct acctggcacc actggagagc 960
tcttgccaga ccagctgcca ccagaattgc agccggaaga cctccctgca ctccccgga 1020

gacgtgtttg ccgtccccga gcaggttggg ggcagccctg cccagggccc cataccctac 1080
ctggatgatg acatccccctt gctggaggic gaggaagagc cagtgtcact ggagctggga 1140
gacgtgtccc tgggtgtgtg gtcccccgag ggtctgcagc cagcctccaa cacgggcagc 1200
cgcggccatc tcatcgtgca gctgcaggag ctgctgcacc actgggtcct gtggtcagcc 1260
gtcaagagcc gctgggtgat tgtggggctg ttctgtctca tctcatctt gtccctgggtg 1320
ttcgccagcc ggctccgccc cgcagccgg gccccgtac tcttccggcc tgataccaac 1380
atccaggtgc tgcctggacct caagtacaac ctgagcgccg agggcatctc ctgcatcacc 1440
tgttcaggtc tgttccagga gaagccccac agcctgcaga acaacatccg gacgtccctg 1500
gagaagaaga ggcgaggctc aggggtcccc tgggctagcc ggcttgaggc caccctgcag 1560
gatttcccag gcaccgtgta catctctaaa gtgaagagtc aaggccaccc cgcigtctac 1620
aggctctccc tcaatgccag cctgccctgt ccttggcagg ctgtgtcgcc tggggatgga 1680
gaggtgccct ccttccaggt gtatagagcg ctttttggtt acttcaccaa gaagctgacc 1740
gcttgtatgt ctacagtagg gctgtctccag gcggcgagcc cctcccgcaa gtggatgctg 1800
acgaccttgg cctgtgatgc caagcggggc tggaagtgtg acttcagctt ctacgtggcc 1860
accaaggagc agcagcacac ccggaagctg tacttcgccc agtcccacaa gcccccttc 1920
cacgggcgcg tatgcatggc accccctggc tgccctgcta gtccagccc cgatgggctt 1980
accaaaggct tcttcttctg gcctagttag aaagtgccta agggccgtct ctacagccacc 2040
ttcggcttca acccctgcgt gaacacgggc tgcgggaagc cggcgggtgcg gccactagt 2100
gataccgggg ccatggcttt tgtggcttcc ggcatattg gcgtcaaccg cactcggcag 2160
gtggacaacc acgtcattgg agaccgggt agtgtgtct acgacagcag ctttgacctc 2220
ttcaaggaaa ttgggcacct gtgtcacctc tgcaaggcca tcgcagccaa ctccgagctg 2280
gtgaagccgg gtggggccca gtccctgcct tcaggctaca gcattctctc ctctctgcag 2340
atgttgcacc ctgagtgcga ggagctgccc gagcccaacc tgctccggg gcagctgtcc 2400

cacggggcag tgggcgtcag ggagggccgc gtgcagtga tctccatggc tticgagtcg 2460
 accacgtaca agggcaaata ctccttcag acctactcgg actaccitcg ctgggagagc 2520
 ttcttcagc agcagctgca ggccttgccc gagggctcag tctgcgccc ggccttcag 2580
 acctgcgagc actggaagca gatattcatg gaaatcgtag ggtgcagag cgcctgtgc 2640
 ggcctggtgc tatccctgct catctgcgtg gccgcggtgg ccgtgttcac caccacatac 2700
 ctgtctctgc tggccgtgct ctcagcacc tggggcatcg tgtgcctggt ggtgaccatac 2760
 atgtactgga gcggctggga gatgggggct gtggaagcca tctccctgtc catctcgtt 2820
 ggctctccg tggattactg cgtccacctg gtcgagggt acctgctggc tggagagaac 2880
 ctgccccccc accaggccga ggacggcga acgcagcgcc agtggcgta cgtggaggcc 2940
 gtgcggcacg tggcggtggc catcgtctcc agtgcctca ccacggta cgcacagtgc 3000
 cccctcttct tctgcatcat cgcctcattt gccaggttcg gcaagattgt ggcactcaac 3060
 acgggcgtgt ccatcctcta cacgtgacc gtcagaccg ccctgctggg catcatggcg 3120
 cccagctctt tcactcggac ccggacttcc ttctcaagg ccctgggtgc cgtgtgtctg 3180
 gcaggggccc tggggctggg tgcctgcctc gtgtctctgc agagcggcta taagattccc 3240
 ctgcccgcag ggcctccct atag 3264

<210> 16

<211> 200

<212> PRT

<213> Human

<400> 16

Lys Val Gln Val Leu Tyr Gly Gly Thr Asp Leu Phe Asp Tyr Glu Val

5

10

15

Arg Arg Thr Phe Asn Asn Asp Met Leu Leu Ala Phe Ile Ser Ser Ser

20/59

20 25 30
Cys Ile Ala Ala Leu Val Tyr Ile Leu Thr Ser Cys Ser Val Phe Leu
35 40 45
Ser Phe Phe Gly Ile Ala Ser Ile Gly Leu Ser Cys Leu Val Ala Leu
50 55 60
Phe Leu Tyr His Val Val Phe Gly Ile Gln Tyr Leu Gly Ile Leu Asn
65 70 75 80
Gly Val Ala Ala Phe Val Ile Val Gly Ile Gly Val Asp Asp Val Phe
85 90 95
Val Phe Ile Asn Thr Tyr Arg Gln Ala Thr His Leu Glu Asp Pro Gln
100 105 110
Leu Arg Met Ile His Thr Val Gln Thr Ala Gly Lys Ala Thr Phe Phe
115 120 125
Thr Ser Leu Thr Thr Ala Ala Ala Tyr Ala Ala Asn Val Phe Ser Gln
130 135 140
Ile Pro Ala Val His Asp Phe Gly Leu Phe Met Ser Leu Ile Val Ser
145 150 155 160
Cys Cys Trp Leu Ala Val Leu Val Thr Met Pro Ala Ala Leu Gly Leu
165 170 175
Trp Ser Leu Tyr Leu Ala Pro Leu Glu Ser Ser Cys Gln Thr Ser Cys
180 185 190
His Gln Asn Cys Ser Arg Lys Thr
195 200

<210> 17

<211> 1087

<212> PRT

<213> Human

<400> 17

Met Asp His Pro Gly Phe Arg Glu Phe Cys Trp Lys Pro His Glu Val

5

10

15

Leu Lys Asp Leu Pro Leu Gly Ser Tyr Ser Tyr Cys Ser Pro Pro Ser

20

25

30

Ser Leu Met Thr Tyr Phe Phe Pro Thr Glu Arg Gly Gly Lys Ile Tyr

35

40

45

Tyr Asp Gly Met Gly Gln Asp Leu Ala Asp Ile Arg Gly Ser Leu Glu

50

55

60

Leu Ala Met Thr His Pro Glu Phe Tyr Trp Tyr Val Asp Glu Gly Leu

65

70

75

80

Ser Ala Asp Asn Leu Lys Ser Ser Leu Leu Arg Ser Glu Ile Leu Phe

85

90

95

Gly Ala Pro Leu Pro Asn Tyr Tyr Ser Val Asp Asp Arg Trp Glu Glu

100

105

110

Gln Arg Ala Lys Phe Gln Ser Phe Val Val Thr Tyr Val Ala Met Leu

115

120

125

Ala Lys Gln Ser Thr Ser Lys Val Gln Val Leu Tyr Gly Gly Thr Asp

130

135

140

22/59

Leu Phe Asp Tyr Glu Val Arg Arg Thr Phe Asn Asn Asp Met Leu Leu
145 150 155 160
Ala Phe Ile Ser Ser Ser Cys Ile Ala Ala Leu Val Tyr Ile Leu Thr
 165 170 175
Ser Cys Ser Val Phe Leu Ser Phe Phe Gly Ile Ala Ser Ile Gly Leu
 180 185 190
Ser Cys Leu Val Ala Leu Phe Leu Tyr His Val Val Phe Gly Ile Gln
 195 200 205
Tyr Leu Gly Ile Leu Asn Gly Val Ala Ala Phe Val Ile Val Gly Ile
 210 215 220
Gly Val Asp Asp Val Phe Val Phe Ile Asn Thr Tyr Arg Gln Ala Thr
225 230 235 240
His Leu Glu Asp Pro Gln Leu Arg Met Ile His Thr Val Gln Thr Ala
 245 250 255
Gly Lys Ala Thr Phe Phe Thr Ser Leu Thr Thr Ala Ala Ala Tyr Ala
 260 265 270
Ala Asn Val Phe Ser Gln Ile Pro Ala Val His Asp Phe Gly Leu Phe
 275 280 285
Met Ser Leu Ile Val Ser Cys Cys Trp Leu Ala Val Leu Val Thr Met
 290 295 300
Pro Ala Ala Leu Gly Leu Trp Ser Leu Tyr Leu Ala Pro Leu Glu Ser
305 310 315 320
Ser Cys Gln Thr Ser Cys His Gln Asn Cys Ser Arg Lys Thr Ser Leu

325 330 335
His Phe Pro Gly Asp Val Phe Ala Ala Pro Glu Gln Val Gly Gly Ser
340 345 350
Pro Ala Gln Gly Pro Ile Pro Tyr Leu Asp Asp Asp Ile Pro Leu Leu
355 360 365
Glu Val Glu Glu Glu Pro Val Ser Leu Glu Leu Gly Asp Val Ser Leu
370 375 380
Val Ser Val Ser Pro Glu Gly Leu Gln Pro Ala Ser Asn Thr Gly Ser
385 390 395 400
Arg Gly His Leu Ile Val Gln Leu Gln Glu Leu Leu His His Trp Val
405 410 415
Leu Trp Ser Ala Val Lys Ser Arg Trp Val Ile Val Gly Leu Phe Val
420 425 430
Ser Ile Leu Ile Leu Ser Leu Val Phe Ala Ser Arg Leu Arg Pro Ala
435 440 445
Ser Arg Ala Pro Leu Leu Phe Arg Pro Asp Thr Asn Ile Gln Val Leu
450 455 460
Leu Asp Leu Lys Tyr Asn Leu Ser Ala Glu Gly Ile Ser Cys Ile Thr
465 470 475 480
Cys Ser Gly Leu Phe Gln Glu Lys Pro His Ser Leu Gln Asn Asn Ile
485 490 495
Arg Thr Ser Leu Glu Lys Lys Arg Arg Gly Ser Gly Val Pro Trp Ala
500 505 510

Ser Arg Pro Glu Ala Thr Leu Gln Asp Phe Pro Gly Thr Val Tyr Ile

515

520

525

Ser Lys Val Lys Ser Gln Gly His Pro Ala Val Tyr Arg Leu Ser Leu

530

535

540

Asn Ala Ser Leu Pro Ala Pro Trp Gln Ala Val Ser Pro Gly Asp Gly

545

550

555

560

Glu Val Pro Ser Phe Gln Val Tyr Arg Ala Pro Phe Gly Asn Phe Thr

565

570

575

Lys Lys Leu Thr Ala Cys Met Ser Thr Val Gly Leu Leu Gln Ala Ala

580

585

590

Ser Pro Ser Arg Lys Trp Met Leu Thr Thr Leu Ala Cys Asp Ala Lys

595

600

605

Arg Gly Trp Lys Phe Asp Phe Ser Phe Tyr Val Ala Thr Lys Glu Gln

610

615

620

Gln His Thr Arg Lys Leu Tyr Phe Ala Gln Ser His Lys Pro Pro Phe

625

630

635

640

His Gly Arg Val Cys Met Ala Pro Pro Gly Cys Leu Leu Ser Ser Ser

645

650

655

Pro Asp Gly Pro Thr Lys Gly Phe Phe Phe Val Pro Ser Glu Lys Val

660

665

670

Pro Lys Ala Arg Leu Ser Ala Thr Phe Gly Phe Asn Pro Cys Val Asn

675

680

685

Thr Gly Cys Gly Lys Pro Ala Val Arg Pro Leu Val Asp Thr Gly Ala

690	695	700	
Met Val Phe Val Val Phe Gly Ile Ile Gly Val Asn Arg Thr Arg Gln			
705	710	715	720
Val Asp Asn His Val Ile Gly Asp Pro Gly Ser Val Val Tyr Asp Ser			
	725	730	735
Ser Phe Asp Leu Phe Lys Glu Ile Gly His Leu Cys His Leu Cys Lys			
	740	745	750
Ala Ile Ala Ala Asn Ser Glu Leu Val Lys Pro Gly Gly Ala Gln Cys			
	755	760	765
Leu Pro Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Phe Leu Gln Met Leu His Pro			
	770	775	780
Glu Cys Lys Glu Leu Pro Glu Pro Asn Leu Leu Pro Gly Gln Leu Ser			
785	790	795	800
His Gly Ala Val Gly Val Arg Glu Gly Arg Val Gln Trp Ile Ser Met			
	805	810	815
Ala Phe Glu Ser Thr Thr Tyr Lys Gly Lys Ser Ser Phe Gln Thr Tyr			
	820	825	830
Ser Asp Tyr Leu Arg Trp Glu Ser Phe Leu Gln Gln Gln Leu Gln Ala			
	835	840	845
Leu Pro Glu Gly Ser Val Leu Arg Arg Gly Phe Gln Thr Cys Glu His			
	850	855	860
Trp Lys Gln Ile Phe Met Glu Ile Val Gly Val Gln Ser Ala Leu Cys			
865	870	875	880

Gly Leu Val Leu Ser Leu Leu Ile Cys Val Ala Ala Val Ala Val Phe
885 890 895
Thr Thr His Ile Leu Leu Leu Leu Pro Val Leu Leu Ser Ile Leu Gly
900 905 910
Ile Val Cys Leu Val Val Thr Ile Met Tyr Trp Ser Gly Trp Glu Met
915 920 925
Gly Ala Val Glu Ala Ile Ser Leu Ser Ile Leu Val Gly Ser Ser Val
930 935 940
Asp Tyr Cys Val His Leu Val Glu Gly Tyr Leu Leu Ala Gly Glu Asn
945 950 955 960
Leu Pro Pro His Gln Ala Glu Asp Ala Arg Thr Gln Arg Gln Trp Arg
965 970 975
Thr Leu Glu Ala Val Arg His Val Gly Val Ala Ile Val Ser Ser Ala
980 985 990
Leu Thr Thr Val Ile Ala Thr Val Pro Leu Phe Phe Cys Ile Ile Ala
995 1000 1005
Pro Phe Ala Lys Phe Gly Lys Ile Val Ala Leu Asn Thr Gly Val Ser
1010 1015 1020
Ile Leu Tyr Thr Leu Thr Val Ser Thr Ala Leu Leu Gly Ile Met Ala
1025 1030 1035 1040
Pro Ser Ser Phe Thr Arg Thr Arg Thr Ser Phe Leu Lys Ala Leu Gly
1045 1050 1055
Ala Val Leu Leu Ala Gly Ala Leu Gly Leu Gly Ala Cys Leu Val Leu

27/59

1060 1065 1070
Leu Gln Ser Gly Tyr Lys Ile Pro Leu Pro Ala Gly Ala Ser Leu

1075 1080 1085

<210> 18

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 18

ctggctgggca tactgggtgg actc .24

<210> 19

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 19

gcctcctgcc tcttgctgtc ca 22

<210> 20

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 20

ccatgggctt cttctcctac ttg

23

<210> 21

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 21

gggcccctag gaagaagcag at

22

<210> 22

<211> 240

<212> DNA

<213> Human

<400> 22

ccatgggctt cttctcctac ttgggtatcc gtcctccct ggtcatccig caagtgggtc 60

ctttccctggt gctgtccgtg ggggctgata acatcttcat ctttgttctc gattaccaga 120

ggctgccccg gaggcctggg gagccacgag aggtccacat tgggcgagcc ctaggcaggg 180

tggctcccag catgctgttg tgcagcctct ctgaggccat ctgtttcttc ctagggggccc 240

<210> 23

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 23

ttgctgccct ggctacatc ctca

24

<210> 24

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 24

cagagctgca ggcatggta caa

23

<210> 25

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 25

gggtggccgc ctctgtgat

19

<210> 26

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 26

gcacggccag ccagcaaca

19

<210> 27

<211> 258

<212> DNA

<213> Human

<400> 27

gggtggccgc cttcgtgac gtgggcattg gtgtggacga tgtctttgtg ttcacaaaca 60

ccctaccgcca ggccaccac ctggaagacc cacagctgcg catgatccac accgtccaaa 120

ctgcaggcaa ggccaccttc ttcacctccc tgaccacagc cgccgcctac gcagctaacg 180

tcttctccca gatcccagcc gtccacgact ttggcctgtt catgtctctc atcgtgtcct 240

gttgctggct ggccgtgc 258

<210> 28

<211> 582

<212> DNA

<213> Human

<400> 28

ttaatggctg agcgtctctt ggaagacgag atcaatcgca ccacagctga agacctgccc 60

atctttgcca ccagctacat tgtcatattc ctgtacatct ctctggccct gggcagctat 120
 tccagctgga gccgagtgat ggtggactcc aagggcacgc tgggcctcgg cggggtggcc 180
 gtggtcctgg gagcagtcac ggctgccatg ggcttcttct cctacttggg tatccgctcc 240
 tcccctggta tcttgcaagt ggttcctttc ctggctgctt ccgtgggggc tgataacatc 300
 ttcatctttg ttctcgagta ccagaggctg ccccgagggc ctggggagcc acgagaggtc 360
 cacattgggc gagccctagg cagggtggct cccagcatgc tgttgtcag cctctctgag 420
 gccatctgct tcttcctagg ggccctgacc cccatgccag ctgtcggac ctltgccctg 480
 acctctggcc ttgcagtgat ccttgacttc ctctgcaga tgcagcctt tgtggccctg 540
 ctctccctgg acagcaagag gcaggaggcc tcccggttgg ac 582

<210> 29

<211> 600

<212> DNA

<213> Human

<400> 29

aaagtccagg ttctctatgg ggggacagac ctgtttgact atgaagtgcg caggacgttc 60
 aacaatgaca tgcctctggc ctctacagc agcagctgca ttgttgcctt ggtctacatc 120
 ctacacctct gctcagtggt cctgtccttc tttaggatgg ccagcattgg tctcagctgc 180
 ctggctggccc tcttccctga ccacgtggc tttaggtatcc agtacttggg catcctgaat 240
 ggggtggccg ccttcgtgat cgtgggcatt ggtgtggacg atgtctttgt gtctatcaac 300
 acctaccgcc aggccacca cctggaagac ccacagctgc gcatgatcca caccgtccaa 360
 actgcaggca aggccacctt ctacacctcc ctgaccacag ccgccgcta cgcagctaac 420
 gtcttctccc agatccagc cgtccacgac tttaggcctgt tcatgtctct catcgtgtcc 480
 tgttgtctggc tggccgtgct tgtcaccatg cctgcagctc tgggcctctg gagcctctac 540

ctggcaccac tggagagctc ctgccagacc agctgccacc agaattgcag ccggaagacc 600

<210> 30

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 30

cggagcgcaa cattttcac

19

<210> 31

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 31

acaacactac ccgggtctcc aatg

24

<210> 32

<211> 1371

<212> DNA

<213> Human

<400> 32

atggaccacc caggcttccg ggagttctgc tggaagcccc acgaggctgt caaggatctg 60

ccgctgggct cctactccta ctgctcgccc cccagctcgc tcatgaccta cttttttccc 120
 accgagaggg gggcaagat ctactatgac ggcatgggcc aggacctggc ggacatccgg 180
 ggctccctgg agctggccat gactcaccct gagttctact ggtatgtgga tgagggcctc 240
 tctgcagaca atctgaagag ctccctcctg cgcagtgaga tctgtttgg agcaccctg 300
 cccaactact actcagtaga tgaccgctgg gaggaacaac gggctaagtt tcagagcttc 360
 gtggtcacct acgtggccat gctggccaag cagtctacca gcaaagtcca ggttctctat 420
 ggggggacag acctgttga ctaigaagt cgcaggacgt tcaacaatga catgctcctg 480
 gccttcacga gcagcagctg catgtctgcc ctggtctaca tcttcacctc ctgctcagt 540
 ttctgtcct tctttgggat tgccagcatt ggtctcagct gccgtgtggc cctcttctg 600
 taccagctgg tctttgggat ccagtcctg ggcatccga atgggggtggc cgccttcgtg 660
 atcgtgggca ttggtgtgga cgaatcttt gtgttcacga acacctaccg ccaggccacc 720
 caccitgaag acccacagct gcgcatgac cacaccgicc aaactgcagg caaggccacc 780
 ttcttcacct ccttgaccac agccgccgcc tacgcagcta acgtcttctc ccagatccca 840
 gccgtccag actttggcct gtcatgtct ctcacgtgt cctgttgctg gctggccgtg 900
 ctgttcacca tgctgcagc tctgggcctc tggagcctct acctggcacc actggagagc 960
 tctgccaga ccagctgcca ccagaattgc agccggaaga cctccctgca ctccccgga 1020
 gacgtgtttg ccactcccga gcaggttga ggcagccctg cccagggccc cataccctac 1080
 ctggatgatg acatcccctt gctggaggtc gaggaagagc cagtgtcact ggagctggga 1140
 gacgtgtccc tgggtgtgt gtccccgag ggtctgcagc cagcctcaa cacgggcagc 1200
 cgcggccatc tcatcgtgca gctgcaggag ctgctgcacc actgggtcct gtggtcagcc 1260
 gtcaagagcc gctgggtgat tgtggccggc tccgccccgc cagccgggcc ccgtactct 1320
 tccggcctga taccaacatc caggctcctg tggacctcaa gtacaacctg a 1371

<211> 1338

<212> DNA

<213> Human

<400> 33

atggaccacc caggcttccg ggagttctgc tggagcccc acgaggctgt caaggatctg 60
ccgctgggct cctactccia ctgctgccc cccagctcgc tcatgaccta ctttttccc 120
accgagaggg gcggcaagat ctactatgac ggcatgggcc aggacctggc ggacatccgg 180
ggctcccttg agctggccat gactcacctt gatttctact ggtatgtgga tgaggccctc 240
tctgcagaca atctgaagag ctccctcccg cgcagtgaga tctgttttg agcacccttg 300
cccaactact actcagtaga tgaccgctgg gaggaacaac gggctaagtt tcagagcttc 360
gtggtcacct acgtggccat gctggccaag cagcttacca gcaaagtcca ggttctctat 420
ggggggacag acctgttga ctatgaagtg cgcaggacgt tcaacaatga catgctcctg 480
gccttcatca gcagcagctg cattgtctgc ctggtctaca tcttcacctc ctgctcagtg 540
ttctgtctt tctttgggat tgccagcatt ggtctcagct gccctggggc cctcttccctg 600
taccacgttg tctttggtat ccagtccttg ggcatcciga atgggggtggc cgccttcgtg 660
atcgtgggca ttgggttgga cgatgtcttt gtgttcatca acacctaccg ccaggccacc 720
cacctggaag acccacagct gcgcattgac cacaccgtcc aaactgcagg caaggccacc 780
ttcttcacct ccttgaccac agccgcccgc tacgcagcta acgtcttctc ccagatccca 840
gccgtccacg actttggcct gtatcatgtc ctcatcgtgt cctgttgctg gctggccgtg 900
cttgtcacca tgcctgcagc tctgggccc tggagcctct acctggcacc actggagagc 960
tcttgccaga ccagctgcca ccagaattgc agccggaaga cctccctgca ctccccgga 1020
gacgtgtttg ccactcccga gcaggttgga ggcagccctg cccagggccc cataccctac 1080
ctggatgatg acatccctt gctggaggtc gaggaagagc cagtgtcact ggagctggga 1140

gacgtgtccc tgggtgtcgt gtcccccag ggctgcagc cagcctccaa cacgggcagc 1200
 cgcggccatc tcatcgtgca gctgcaggag ctgctgcacc actgggtcct gtggcagcc 1260
 gtcaagagcc gctgggtgat tgtgtccgt ttagcactca gtccctattc tgaattgag 1320
 gatgagaacg gtggctag 1338

<210> 34

<211> 456

<212> PRT

<213> Human

<400> 34

Met Asp His Pro Gly Phe Arg Glu Phe Cys Trp Lys Pro His Glu Val

5

10

15

Leu Lys Asp Leu Pro Leu Gly Ser Tyr Ser Tyr Cys Ser Pro Pro Ser

20

25

30

Ser Leu Met Thr Tyr Phe Phe Pro Thr Glu Arg Gly Gly Lys Ile Tyr

35

40

45

Tyr Asp Gly Met Gly Gln Asp Leu Ala Asp Ile Arg Gly Ser Leu Glu

50

55

60

Leu Ala Met Thr His Pro Glu Phe Tyr Trp Tyr Val Asp Glu Gly Leu

65

70

75

80

Ser Ala Asp Asn Leu Lys Ser Ser Leu Leu Arg Ser Glu Ile Leu Phe

85

90

95

Gly Ala Pro Leu Pro Asn Tyr Tyr Ser Val Asp Asp Arg Trp Glu Glu

100

105

110

Gln Arg Ala Lys Phe Gln Ser Phe Val Val Thr Tyr Val Ala Met Leu

115

120

125

Ala Lys Gln Ser Thr Ser Lys Val Gln Val Leu Tyr Gly Gly Thr Asp

130

135

140

Leu Phe Asp Tyr Glu Val Arg Arg Thr Phe Asn Asn Asp Met Leu Leu

145

150

155

160

Ala Phe Ile Ser Ser Ser Cys Ile Ala Ala Leu Val Tyr Ile Leu Thr

165

170

175

Ser Cys Ser Val Phe Leu Ser Phe Phe Gly Ile Ala Ser Ile Gly Leu

180

185

190

Ser Cys Leu Val Ala Leu Phe Leu Tyr His Val Val Phe Gly Ile Gln

195

200

205

Tyr Leu Gly Ile Leu Asn Gly Val Ala Ala Phe Val Ile Val Gly Ile

210

215

220

Gly Val Asp Asp Val Phe Val Phe Ile Asn Thr Tyr Arg Gln Ala Thr

225

230

235

240

His Leu Glu Asp Pro Gln Leu Arg Met Ile His Thr Val Gln Thr Ala

245

250

255

Gly Lys Ala Thr Phe Phe Thr Ser Leu Thr Thr Ala Ala Ala Tyr Ala

260

265

270

Ala Asn Val Phe Ser Gln Ile Pro Ala Val His Asp Phe Gly Leu Phe

275

280

285

Met Ser Leu Ile Val Ser Cys Cys Trp Leu Ala Val Leu Val Thr Met

290 295 300
 Pro Ala Ala Leu Gly Leu Trp Ser Leu Tyr Leu Ala Pro Leu Glu Ser
 305 310 315 320
 Ser Cys Gln Thr Ser Cys His Gln Asn Cys Ser Arg Lys Thr Ser Leu
 325 330 335
 His Phe Pro Gly Asp Val Phe Ala Thr Pro Glu Gln Val Gly Gly Ser
 340 345 350
 Pro Ala Gln Gly Pro Ile Pro Tyr Leu Asp Asp Asp Ile Pro Leu Leu
 355 360 365
 Glu Val Glu Glu Glu Pro Val Ser Leu Glu Leu Gly Asp Val Ser Leu
 370 375 380
 Val Ser Val Ser Pro Glu Gly Leu Gln Pro Ala Ser Asn Thr Gly Ser
 385 390 395 400
 Arg Gly His Leu Ile Val Gln Leu Gln Glu Leu Leu His His Trp Val
 405 410 415
 Leu Trp Ser Ala Val Lys Ser Arg Trp Val Ile Val Ala Gly Ser Ala
 420 425 430
 Pro Pro Ala Gly Pro Arg Tyr Ser Ser Gly Leu Ile Pro Thr Ser Arg
 435 440 445
 Cys Cys Trp Thr Ser Ser Thr Thr
 450 455
 <210> 35
 <211> 445

<212> PRT

<213> Human

<400> 35

Met Asp His Pro Gly Phe Arg Glu Phe Cys Trp Lys Pro His Glu Val

5

10

15

Leu Lys Asp Leu Pro Leu Gly Ser Tyr Ser Tyr Cys Ser Pro Pro Ser

20

25

30

Ser Leu Met Thr Tyr Phe Phe Pro Thr Glu Arg Gly Gly Lys Ile Tyr

35

40

45

Tyr Asp Gly Met Gly Gln Asp Leu Ala Asp Ile Arg Gly Ser Leu Glu

50

55

60

Leu Ala Met Thr His Pro Glu Phe Tyr Trp Tyr Val Asp Glu Gly Leu

65

70

75

80

Ser Ala Asp Asn Leu Lys Ser Ser Leu Leu Arg Ser Glu Ile Leu Phe

85

90

95

Gly Ala Pro Leu Pro Asn Tyr Tyr Ser Val Asp Asp Arg Trp Glu Glu

100

105

110

Gln Arg Ala Lys Phe Gln Ser Phe Val Val Thr Tyr Val Ala Met Leu

115

120

125

Ala Lys Gln Ser Thr Ser Lys Val Gln Val Leu Tyr Gly Gly Thr Asp

130

135

140

Leu Phe Asp Tyr Glu Val Arg Arg Thr Phe Asn Asn Asp Met Leu Leu

145

150

155

160

39/59

Ala Phe Ile Ser Ser Ser Cys Ile Ala Ala Leu Val Tyr Ile Leu Thr
 165 170 175
 Ser Cys Ser Val Phe Leu Ser Phe Phe Gly Ile Ala Ser Ile Gly Leu
 180 185 190
 Ser Cys Leu Val Ala Leu Phe Leu Tyr His Val Val Phe Gly Ile Gln
 195 200 205
 Tyr Leu Gly Ile Leu Asn Gly Val Ala Ala Phe Val Ile Val Gly Ile
 210 215 220
 Gly Val Asp Asp Val Phe Val Phe Ile Asn Thr Tyr Arg Gln Ala Thr
 225 230 235 240
 His Leu Glu Asp Pro Gln Leu Arg Met Ile His Thr Val Gln Thr Ala
 245 250 255
 Gly Lys Ala Thr Phe Phe Thr Ser Leu Thr Thr Ala Ala Ala Tyr Ala
 260 265 270
 Ala Asn Val Phe Ser Gln Ile Pro Ala Val His Asp Phe Gly Leu Phe
 275 280 285
 Met Ser Leu Ile Val Ser Cys Cys Trp Leu Ala Val Leu Val Thr Met
 290 295 300
 Pro Ala Ala Leu Gly Leu Trp Ser Leu Tyr Leu Ala Pro Leu Glu Ser
 305 310 315 320
 Ser Cys Gln Thr Ser Cys His Gln Asn Cys Ser Arg Lys Thr Ser Leu
 325 330 335
 His Phe Pro Gly Asp Val Phe Ala Thr Pro Glu Gln Val Gly Gly Ser

40/59

340 345 350
 Pro Ala Gln Gly Pro Ile Pro Tyr Leu Asp Asp Asp Ile Pro Leu Leu
 355 360 365
 Glu Val Glu Glu Glu Pro Val Ser Leu Glu Leu Gly Asp Val Ser Leu
 370 375 380
 Val Ser Val Ser Pro Glu Gly Leu Gln Pro Ala Ser Asn Thr Gly Ser
 385 390 395 400
 Arg Gly His Leu Ile Val Gln Leu Gln Glu Leu Leu His His Trp Val
 405 410 415
 Leu Trp Ser Ala Val Lys Ser Arg Trp Val Ile Val Val Arg Leu Ala
 420 425 430
 Leu Ser Ser Tyr Ser Val Ile Glu Asp Glu Asn Gly Gly
 435 440 445

<210> 36

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 36

tactcttccg gcctgatacc aacat

25

<210> 37

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 37

ccaaaggigc aagtgccag ag

22

<210> 38

<211> 27

<212> PRT

<213> Human

<400> 38

Asp Thr Val Ala Ile Leu Ser Pro Arg Leu Glu Tyr Ser Gly Thr Ile

5

10

15

Ser Ala His Cys Asn Leu Tyr Leu Leu Asp Ser

20

25

<210> 39

<211> 81

<212> DNA

<213> Human

<400> 39

acacagtigc cattcigtca cccaggctgg agtacagtgg cacaatctcg gctcactgca

60

acctctacct

cctggattca

g

81

<210> 40

<211> 1392

<212> PRT

<213> Human

<400> 40

```

Met Asp Thr Glu Asp Asp Pro Leu Leu Gln Asp Val Trp Leu Glu Glu
      5                      10                      15
Glu Gln Glu Glu Glu Glu Ala Thr Gly Glu Thr Phe Leu Gly Ala Gln
      20                      25                      30
Lys Pro Gly Pro Gln Pro Gly Ala Gly Gly Gln Cys Cys Trp Arg His
      35                      40                      45
Trp Pro Leu Ala Ser Arg Pro Pro Ala Ser Gly Phe Trp Ser Thr Leu
      50                      55                      60
Gly Trp Ala Phe Thr Asn Pro Cys Cys Ala Gly Leu Val Leu Phe Leu
      65                      70                      75                      80
Gly Cys Ser Ile Pro Met Ala Leu Ser Ala Phe Met Phe Leu Tyr Tyr
      85                      90                      95
Pro Pro Leu Asp Ile Asp Ile Ser Tyr Asn Ala Phe Glu Ile Arg Asn
      100                     105                     110
His Glu Ala Ser Gln Arg Phe Asp Ala Leu Thr Leu Ala Leu Lys Ser
      115                     120                     125
Gln Phe Gly Ser Trp Gly Arg Asn Arg Arg Asp Leu Ala Asp Phe Thr
      130                     135                     140
Ser Glu Thr Leu Gln Arg Leu Ile Ser Glu Gln Leu Gln Gln Leu His
      145                     150                     155                     160
Leu Gly Asn Arg Ser Arg Gln Ala Ser Arg Ala Pro Arg Val Ile Pro
      165                     170                     175
Ala Ala Ser Leu Gly Ser Pro Gly Pro Tyr Arg Asp Thr Ser Ala Ala
      180                     185                     190
Gln Lys Pro Thr Ala Asn Arg Ser Gly Arg Leu Arg Arg Glu Thr Pro
      195                     200                     205

```

Pro Leu Glu Asp Leu Ala Ala Asn Gln Ser Glu Asp Pro Arg Asn Gln
 210 215 220
 Arg Leu Ser Lys Asn Gly Arg Tyr Gln Pro Ser Ile Pro Pro His Ala
 225 230 235 240
 Ala Val Ala Ala Asn Gln Ser Arg Ala Arg Arg Gly Ala Ser Arg Trp
 245 250 255
 Asp Tyr Ser Arg Ala Tyr Val Ser Ala Asn Thr Gln Thr His Ala His
 260 265 270
 Trp Arg Ile Glu Leu Ile Phe Leu Ala Arg Gly Asp Ala Glu Arg Asn
 275 280 285
 Ile Phe Thr Ser Glu Arg Leu Val Thr Ile His Glu Ile Glu Arg Lys
 290 295 300
 Ile Met Asp His Pro Gly Phe Arg Glu Phe Cys Trp Lys Pro His Glu
 305 310 315 320
 Val Leu Lys Asp Leu Pro Leu Gly Ser Tyr Ser Tyr Cys Ser Pro Pro
 325 330 335
 Ser Ser Leu Met Thr Tyr Phe Phe Pro Thr Glu Arg Gly Gly Lys Ile
 340 345 350
 Tyr Tyr Asp Gly Met Gly Gln Asp Leu Ala Asp Ile Arg Gly Ser Leu
 355 360 365
 Glu Leu Ala Met Thr His Pro Glu Phe Tyr Trp Tyr Val Asp Glu Gly
 370 375 380
 Leu Ser Ala Asp Asn Leu Lys Ser Ser Leu Leu Arg Ser Glu Ile Leu
 385 390 395 400
 Phe Gly Ala Pro Leu Pro Asn Tyr Tyr Ser Val Asp Asp Arg Trp Glu
 405 410 415
 Glu Gln Arg Ala Lys Phe Gln Ser Phe Val Val Thr Tyr Val Ala Met
 420 425 430
 Leu Ala Lys Gln Ser Thr Ser Lys Val Gln Val Leu Tyr Gly Gly Thr
 435 440 445
 Asp Leu Phe Asp Tyr Glu Val Arg Arg Thr Phe Asn Asn Asp Met Leu
 450 455 460
 Leu Ala Phe Ile Ser Ser Ser Cys Ile Ala Ala Leu Val Tyr Ile Leu
 465 470 475 480
 Thr Ser Cys Ser Val Phe Leu Ser Phe Phe Gly Ile Ala Ser Ile Gly

	485		490		495
Leu Ser Cys	Leu Val Ala Leu Phe	Leu Tyr His	Val Val Phe	Gly Ile	
	500		505		510
Gln Tyr Leu	Gly Ile Leu Asn Gly	Val Ala Ala	Phe Val Ile	Val Gly	
	515		520		525
Ile Gly Val	Asp Asp Val Phe	Val Phe Ile	Asn Thr Tyr	Arg Gln Ala	
	530		535		540
Thr His Leu	Glu Asp Pro Gln	Leu Arg Met	Ile His Thr	Val Gln Thr	
	545		550		555
Ala Gly Lys	Ala Thr Phe Phe	Thr Ser Leu	Thr Thr Ala	Ala Ala Tyr	
	565		570		575
Ala Ala Asn	Val Phe Ser Gln	Ile Pro Ala	Val His Asp	Phe Gly Leu	
	580		585		590
Phe Met Ser	Leu Ile Val Ser	Cys Cys Trp	Leu Ala Val	Leu Val Thr	
	595		600		605
Met Pro Ala	Ala Leu Gly Leu	Trp Ser Leu	Tyr Leu Ala	Pro Leu Glu	
	610		615		620
Ser Ser Cys	Gln Thr Ser Cys	His Gln Asn	Cys Ser Arg	Lys Thr Ser	
	625		630		635
Leu His Phe	Pro Gly Asp Val	Phe Ala Thr	Pro Glu Gln	Val Gly Gly	
	645		650		655
Ser Pro Ala	Gln Gly Pro Ile	Pro Tyr Leu	Asp Asp Asp	Ile Pro Leu	
	660		665		670
Leu Glu Val	Glu Glu Glu Pro	Val Ser Leu	Glu Leu Gly	Asp Val Ser	
	675		680		685
Leu Val Ser	Val Ser Pro Glu	Gly Leu Gln	Pro Ala Ser	Asn Thr Gly	
	690		695		700
Ser Arg Gly	His Leu Ile Val	Gln Leu Gln	Glu Leu Leu	His His Trp	
	705		710		715
Val Leu Trp	Ser Ala Val Lys	Ser Arg Trp	Val Ile Val	Gly Leu Phe	
	725		730		735
Val Ser Ile	Leu Ile Leu Ser	Leu Val Phe	Ala Ser Arg	Leu Arg Pro	
	740		745		750
Ala Ser Arg	Ala Pro Leu Leu	Phe Arg Pro	Asp Thr Asn	Ile Gln Val	
	755		760		765

Leu Leu Asp Leu Lys Tyr Asn Leu Ser Ala Glu Gly Ile Ser Cys Ile
 770 775 780
 Thr Cys Ser Gly Leu Phe Gln Glu Lys Pro His Ser Leu Gln Asn Asn
 785 790 795 800
 Ile Arg Thr Ser Leu Glu Lys Lys Arg Arg Gly Ser Gly Val Pro Trp
 805 810 815
 Ala Ser Arg Pro Glu Ala Thr Leu Gln Asp Phe Pro Gly Thr Val Tyr
 820 825 830
 Ile Ser Lys Val Lys Ser Gln Gly His Pro Ala Val Tyr Arg Leu Ser
 835 840 845
 Leu Asn Ala Ser Leu Pro Ala Pro Trp Gln Ala Val Ser Pro Gly Asp
 850 855 860
 Gly Glu Val Pro Ser Phe Gln Val Tyr Arg Ala Pro Phe Gly Asn Phe
 865 870 875 880
 Thr Lys Lys Leu Thr Ala Cys Met Ser Thr Val Gly Leu Leu Gln Ala
 885 890 895
 Ala Ser Pro Ser Arg Lys Trp Met Leu Thr Thr Leu Ala Cys Asp Ala
 900 905 910
 Lys Arg Gly Trp Lys Phe Asp Phe Ser Phe Tyr Val Ala Thr Lys Glu
 915 920 925
 Gln Gln His Thr Arg Lys Leu Tyr Phe Ala Gln Ser His Lys Pro Pro
 930 935 940
 Phe His Gly Arg Val Cys Met Ala Pro Pro Gly Cys Leu Leu Ser Ser
 945 950 955 960
 Ser Pro Asp Gly Pro Thr Lys Gly Phe Phe Phe Val Pro Ser Glu Lys
 965 970 975
 Val Pro Lys Ala Arg Leu Ser Ala Thr Phe Gly Phe Asn Pro Cys Val
 980 985 990
 Asn Thr Gly Cys Gly Lys Pro Ala Val Arg Pro Leu Val Asp Thr Gly
 995 1000 1005
 Ala Met Val Phe Val Val Phe Gly Ile Ile Gly Val Asn Arg Thr Arg
 1010 1015 1020
 Gln Val Asp Asn His Val Ile Gly Asp Pro Gly Ser Val Val Tyr Asp
 1025 1030 1035 1040
 Ser Ser Phe Asp Leu Phe Lys Glu Ile Gly His Leu Cys His Leu Cys

	1045	1050	1055
Lys Ala Ile	Ala Ala Asn Ser Glu Leu Val	Lys Pro Gly Gly	Ala Gln
1060		1065	1070
Cys Leu Pro Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Phe Leu Gln Met Leu His			
1075	1080		1085
Pro Glu Cys Lys Glu Leu Pro Glu Pro Asn Leu Leu Pro Gly Gln Leu			
1090	1095		1100
Ser His Gly Ala Val Gly Val Arg Glu Gly Arg Val Gln Trp Ile Ser			
1105	1110	1115	1120
Met Ala Phe Glu Ser Thr Thr Tyr Lys Gly Lys Ser Ser Phe Gln Thr			
	1125	1130	1135
Tyr Ser Asp Tyr Leu Arg Trp Glu Ser Phe Leu Gln Gln Gln Leu Gln			
1140	1145		1150
Ala Leu Pro Glu Gly Ser Val Leu Arg Arg Gly Phe Gln Thr Cys Glu			
1155	1160		1165
His Trp Lys Gln Ile Phe Met Glu Ile Val Gly Val Gln Ser Ala Leu			
1170	1175		1180
Cys Gly Leu Val Leu Ser Leu Leu Ile Cys Val Ala Ala Val Ala Val			
1185	1190	1195	1200
Phe Thr Thr His Ile Leu Leu Leu Leu Pro Val Leu Leu Ser Ile Leu			
	1205	1210	1215
Gly Ile Val Cys Leu Val Val Thr Ile Met Tyr Trp Ser Gly Trp Glu			
	1220	1225	1230
Met Gly Ala Val Glu Ala Ile Ser Leu Ser Ile Leu Val Gly Ser Ser			
1235	1240		1245
Val Asp Tyr Cys Val His Leu Val Glu Gly Tyr Leu Leu Ala Gly Glu			
1250	1255		1260
Asn Leu Pro Pro His Gln Ala Glu Asp Ala Arg Thr Gln Arg Gln Trp			
1265	1270	1275	1280
Arg Thr Leu Glu Ala Val Arg His Val Gly Val Ala Ile Val Ser Ser			
	1285	1290	1295
Ala Leu Thr Thr Val Ile Ala Thr Val Pro Leu Phe Phe Cys Ile Ile			
1300	1305		1310
Ala Pro Phe Ala Lys Phe Gly Lys Ile Val Ala Leu Asn Thr Gly Val			
1315	1320		1325

Ser Ile Leu Tyr Thr Leu Thr Val Ser Thr Ala Leu Leu Gly Ile Met
 1330 1335 1340
 Ala Pro Ser Ser Phe Thr Arg Thr Arg Thr Ser Phe Leu Lys Ala Leu
 1345 1350 1355 1360
 Gly Ala Val Leu Leu Ala Gly Ala Leu Gly Leu Gly Ala Cys Leu Val
 1365 1370 1375
 Leu Leu Gln Ser Gly Tyr Lys Ile Pro Leu Pro Ala Gly Ala Ser Leu
 1380 1385 1390

<210> 41

<211> 4179

<212> DNA

<213> Human

<400> 41

atggacacgg aggatgaccc cttgctgcag gatgtgtggc tagaggagga gcaggaggag 60
 gaagaagcaa cgggtgaaac ctttttaggg gccagaagc cagggcccca acctggggca 120
 gggggacagt gtigctggcg gcactggccc ctggcttccc gacccccagc ttcgggcttc 180
 tggagtaccc tgggctgggc cttaccaat ccgtgctgtg ctgggctggt gctcttcctg 240
 ggctgcagca tccccatggc cctgtcagcc ttcattgtcc ttactaccc accgctggac 300
 attgacatct cctacaacgc ctttagatc cgcaaccacg aggcctcaca gcgtttcgac 360
 gctctcactc tggcgcttaa gtcccagttt ggatcctggg ggcggaaccg gcgcgatttg 420
 gccgacttca cctccgagac gcttcagcgc cttatctcag agcagctgca gcagctgcat 480
 ctcggaacc gctcgcgga agcctccga gcccccgcg tcatccccgc ggctcactc 540
 ggtagcccag gcccttaccg ggacacttcc gcggctcaaa agcccacagc caatcggagc 600
 gggcgacttc ggcgtagagc cccgccccig gaggatctgg cagccaacca gagtgaagac 660
 ccgcgaaacc agcggctgag caagaatggg cggtagcagc ccagcatccc gccccacgcg 720
 gcagtcgagg ccaatcagag ccgtgccgc cgaggcgct cgcgctggga ctactcgcg 780
 gcctatgtga gtgccaacac tcagacgcac gcgactggc gcacgagct catcttcctg 840
 gcgcgcggcg acgcggagcg caacatttcc accagtggc gcctgggtac gatccatgag 900
 atcgagcgca agatcatgga ccaccaggc ttccgggagt tctgctggaa gccccacgag 960
 gigtcaagg atctgccgtt gggctcciac tctactgct cgtccccag ctgctcatg 1020
 acctactttt tcccaccga gagggcggc aagatctact atgacggcat gggccaggac 1080
 ctggcgga tccggggctc cctggagctg gccatgactc accctgagtt ctactggtat 1140
 gtggatgagg gcctctctgc agacaatctg aagagctccc tctgctgcag tgagatcctg 1200

tttggagcac cctgcccac ctactactca gtagatgacc gctgggagga acaacgggct 1260
aagtttcaga gcttcgiggt cacctacgtg gccatgctgg ccaagcagtc taccagcaaa 1320
gtccagggtt tctatggggg gacagacctg ttgactatg aagtcgcag gacgttcaac 1380
aatgacatgc tctggccct catcagcagc agctgcattg ctgcccgtgt clacatccctc 1440
acctcctgt cagtggttct gtccttcttt gggattgcca gcattggtct cagctgcctg 1500
gtggccctct tctgtacca cgtgggtctt ggtatccagt acttgggcat cctgaatggg 1560
gtggccgcct tctgtatcgt gggcattggt gtggacgat tcttttgtt catcaacacc 1620
taccgccagg ccacccacct ggaagacca cagctgcga tgatccacac cgtccaaact 1680
gcaggcaagg ccaccttctt cactccctg accacagccg ccgcctacgc agtaacgtc 1740
ttctcccaga tcccagccgt ccacgacttt ggctgttca tgtctctcat cgtgtcctgt 1800
tgctggctgg ccgtgcttgt caccatgctt gcagctctgg gcctctggag cctctacctg 1860
gcaccactgg agagctctg ccagaccagc tgccaccaga attgcagccg gaagacctcc 1920
ctgcacttcc ccggagacgt gtttgccact cccgagcagg ttggaggcag cctgcccag 1980
ggccccatc cctacctgga tgatgacatc ccttgtctgg aggtcgagga agagccagt 2040
tacttgagc tgggagacgt gtccctgggt tctgtgtccc ccgagggtct gcagccagcc 2100
tccaacacgg gcagccgcgg ccattctatc gtgcagctgc aggagctgt gcaccactgg 2160
gtctgtgtt cagccgtcaa gagccgtgtg gtgtgtgtg ggctgttctt ctccatctctc 2220
atcttgtccc tgggtgttgc cagccggctc cgcgcccca gccgggcccc gctactcttc 2280
cgccctgata ccaacatcca ggtgtgtctg gacctcaagt acaacctgag cgccgagggc 2340
atctcttga taccctgtt aggtctgtt caggagaagc cccacagcct gcagaacaac 2400
atccggacgt cctggagaa gaagaggcga ggctcagggg tcccctgggc tagccggcct 2460
gaggccacc tgcaggattt ccaggcacc gtgtacatct cttaaagtga gagtcaaggc 2520
caccctgtg tctacaggct ctccctcaat gccagcctgc ctgtctctt gcaggctgtg 2580
tcgcttggg atggagaggt gccctctt caggtgtata gagcgctt ttgtaacttc 2640
accaagaagc tgaccgtt tctgtctaca gtagggctgc tccaggcggc gagcccttc 2700
cgcaagtga tctgacgac ctggccgtg gatgccaagc ggggttgaa gtttgacttc 2760
agcttctacg tggccacca ggagcagcag cacaccgga agctgtactt cgcccagtc 2820
cacaagcccc ccttccacgg gcgctatgc atggcaccct ctggctgcct gcttagcttc 2880
agccccgat ggcctacca aggttctt tctgtccta gtgagaaagt gccaaggcc 2940
cgtctctcag ccaccttgg cttaacccc tgcgtgaaca cgggtgcgg gaagccggcg 3000
gtgcggccac tagtgatc cggggccatg gtctttgtg tcttcggcat tattggctc 3060
aaccgcact ggcaggtgga caaccagtc attggagacc cgggtagtgt tgtctacgac 3120
agcagcttt acccttcaa ggaaattggg cactgtgtc acctctgaa ggccatcgca 3180
gccaactcc agctgtgaa gccgggtgg gccagtgcc tgccttcagg ctacagcatc 3240
tctctcttc tgcagatgtt gcacctgag tgcaaggagc tgcccgagcc caacctgtc 3300

ccggggcagc tgtccacgg ggcagtgggc gtcaggagg gccgcgtgca gtggatctcc 3360
 atggcittcg agtcgaccac gtacaagggc aaatcctcct tccagacctc ctcggactac 3420
 ctgcgtggg agagcttcc cagcagcag ctgcaggcct tggccgagg ctcagtcctg 3480
 cgccggggct tccagacctg cgagcactgg aagcagatat tcatggaaat cgtaggggtg 3540
 cagagcgccc tgtcgggcct ggtgctatcc ctgctcatct gcgtggccgc ggtggccgtg 3600
 ttaccacccc acatcctgct cctgctgccc gtgctcctca gcatcttggg catcgtgtgc 3660
 ctgggtgga ccatcatgta ctggagcggc tgggagatgg gggctgtgga agccatctcc 3720
 ctgtccatcc tcgttggctc ctccgtggat tactgcgtcc acctggctga gggctacctg 3780
 ctggctggag agaacctgcc cccccaccag gccgaggacg ccgaacgca gcgccagtgg 3840
 cgtacgctgg aggccgtgcg gcacgtgggc gtggccatcg tctccagtgc cctaccacg 3900
 gtcacgcca cagtggccct ctcttctgc atcatgccc catitgcaa gttcggcaag 3960
 attgtggcac tcaacacggg cgtgtccatc ctctacacgc tgaccgicag caccgccctg 4020
 ctgggcatca tggcgcccag ctctttcact cggaccgga ctctctcct caaggccctg 4080
 ggtgccgtgc tgcgtgcagg ggccctgggg ctgggtgcct gcctcgtgct cctgcagagc 4140
 ggctataaga ttccctgcc cgcaggggcc tccctatag 4179

<210> 42

<211> 5181

<212> DNA

<213> Human

<400> 42

gcggctccga gaagcttccc cctgcgactt ccgcgaggag acgagtctgc gcagcgtggt 60
 ggccgcggcc ccccgacct ctgcgactc tctccgcgc cggcggtca gcctagcccc 120
 gttcggccgg ccgagactat ggacacggag gatgacctt tgcgcagga tgtgtggcta 180
 gaggaggagc aggaggagga agaagcaacg ggtgaaacct ttttaggggc ccagaagcca 240
 gggccccaac ctggggcagg gggacagtgt tgcctggcgc actggccctt ggcttccga 300
 cccccagctt cgggcttctg gactacctg ggctgggctt tcaccaatcc gtgctgtgct 360
 gggctgggtgc tcttctggg ctgcagcatc ccatggccc tgcagcctt catgttctt 420
 tactaccac cgctggacat tgacatctc tacaacgct ttgagatccg caaccacgag 480

gccicacagc gtttcgacgc tctcactctg gcgcttaagt cccagtttgg atcctggggg 540
cggaaccggc gcgatttggc cgacttcacc tccgagacgc itcagcgctt tatctcagag 600
cagctgcagc agctgcatct cggcaaccgc tcgcggcaag cctcccgagc cccccgcgtc 660
atccccgcgg cctcactcgg tagcccaggc ccttaccggg acacttccgc ggctcaaaag 720
cccacagcca atcggagcgg gcgacttcgg cgtgagaccc cgccccigga ggatctggca 780
gccaaccaga gtaagaccc gcgaaaccag cggctgagca agaattggcg gtaccagccc 840
agcatccgc cccacgcggc agtcgcggcc aatcagagcc gtgcccggc aggcgcctcg 900
cgtcgggact actcgcgcgc ctatgtgagt gccaacactc agacgcacgc gcactggcgc 960
atcgagctca tcttcctggc gcgcggcgac gcggagcgca acattttcac cagtgcgcgc 1020
ciggtcacga tccatgagat cgagcgcaag atcatggacc acccaggctt ccgggagttc 1080
tgctggaagc cccacgaggt gctcaaggat ctgccgtigg gctcctactc ctactgctcg 1140
ccccccagct cgtcatgac ctactttttt cccaccgaga ggggcggcaa gatctactat 1200
gacggcatgg gccaggacct ggcgacatc cggggctccc tggagctggc catgactcac 1260
cctgagttct actggatgtt ggatgagggc ctctctgcag acaatctgaa gagctccctc 1320
ctgcgcagtg agatccgtt tggagacccc ctgcccaact actactcagt agatgaccgc 1380
tgggaggaac aacgggctaa gtttcagagc ttcgtggta cctacgtggc catgctggcc 1440
aagcagtcta ccagcaaagt ccaggttctc tatgggggga cagacctgtt tgactatgaa 1500
gtgcgcagga cgtcaacaa tgacatgctc ctggccitca tcagcagcag ctgcatgtct 1560
gccctggctt acatcctcac ctctgtctca gtgttcctgt ccttctttgg gattgccagc 1620
atiggcttca gctgcctggg gggcccttct ctgtaccacg tggcttttgg tatccagtac 1680
ttgggcatcc tgaatggggg ggccgccttc gtgatcgtgg gcattgggtt ggacgatgic 1740
tttgtgttca tcaacacctt ccgccaggcc acccacctgg aagaccaca gctgcgcatt 1800
atccacaccg tccaaactgc aggcaaggcc accttcttca cctccctgac cacagccgcc 1860

gcciacgcag ctaacgicct cccccagatc ccagccgtcc acgactttgg cctgittcatg 1920
tctctcatcg tgtcctgttg ctggctggcc gtgcttgica ccatgcctgc agctctgggc 1980
ctctggagcc tctacctggc accactggag agctcctgcc agaccagctg ccaccagaat 2040
tgcagccgga agacctccct gcacttcccc ggagacgtgt ttgccactcc cgagcagggt 2100
ggaggcagcc ctgcccaggg ccccatacc tacttggatg atgacatccc ctgtctggag 2160
gtcgaggaag agccagtgic actggagctg ggagacgtgt ccttggtgtc tgtgtcccc 2220
gagggtctgc agccagcctc caacacgggc agccgcggcc atctcatcgt gcagctgcag 2280
gagctgctgc accactgggt cctgtggica gccgtcaaga gccgctgggt gatgtgggg 2340
ctgttcgtct ccatectcat ctgtccctg gtgttcgcca gccggctccg ccccgccagc 2400
cgggccccgc tactcttccg gccatatacc aacatccagg tgcctgtgga cctcaagtac 2460
aacctgagcg ccgagggcct ctcctgcac accgtttcag gtctgttcca ggagaagccc 2520
cacagcctgc agaacaacat ccggacgtcc ctggagaaga agaggcgagg ctgaggggtc 2580
ccctgggcta gccggcctga ggccaccctg caggatttcc caggcaccgt gtacatctct 2640
aaagtgaaga gtcaaggcca ccccgctgtc tacaggctct cctcaatgc cagcctgcct 2700
gtccttggc aggtgtgtc gccctgggat ggagagggtc cctccttcca ggtgtataga 2760
gcgccttttg gtaacttcac caagaagctg accgcttgta tgtctacagt agggctgtc 2820
caggcggcga gcccctcccg caagtggatg ctgacgacct tggcctgtga tgccaagcgg 2880
ggctggaagt ttgacttcag ctctacgtg gccaccaagg agcagcagca caccggaag 2940
ctgtacttcg ccagttcca caagcccccc ttccacgggc gcgtatgat ggcacccct 3000
ggctgcctgc ttagctccag ccccgatggg cctaccaag gcttcttctt cgtgcctagt 3060
gagaaagtgc ccaaggcccg tctctcagcc accttcggct tcaacccctg cgtgaacacg 3120
ggctgcggga agccggcggt gcggccacta gttgatccg gggccatggt cttgtggtc 3180
ttcggcatta ttggcgtcaa ccgcactcgg caggiggaca accacgtcat tggagaccg 3240

ggtagtgttg tctacgacag cagctttgac ctcttcaagg aaattgggca cctgtgtcac 3300
ctctgcaagg ccatcgcagc caactccgag ctgggtgaagc cgggtggggc ccagtgccctg 3360
ccttcaggct acagcatctc ctctttcctg cagatgttgc accctgagtg caaggagctg 3420
cccagagcca acctgtctcc ggggcagctg tcccacgggg cagtgggcgt cagggaaggc 3480
cgcgtgcagt ggatctccat ggctttcgag tcgaccacgt acaagggcaa atcctccttc 3540
cagacctact cggactacct gcgtgggag agcttctcc agcagcagct gcaggccttg 3600
cccagaggct cagtccctgcg ccggggcttc cagacctgcg agcacitgaa gcagatattc 3660
atggaaatcg taggggtgca gagegcccig tgcggcctgg tgctatccct gctcatctgc 3720
gtggccgagg tggccgtgtt caccaccac atcctgtctc tgctgccgt gctctcagc 3780
atcttgggca tcgtgtcct ggtggtgacc atcatgtact ggagcggctg ggagatgggg 3840
gctgtggaag ccatctccct gtccatctc gttaggtcct ccgtggatta ctgcgtccac 3900
ctggctgagg gctacctgct ggctggagag aacctgcccc ccaccaggc caggagagcc 3960
cgaacgcagc gccagtggcg tacgtggag gccgtgcggc acgtgggcgt ggccatcttc 4020
tccagtgccc tcaccacggt catcgccaca gtgccccct tcttctgcat catcgcccca 4080
tttgccaagt tcggcaagat tgtggcactc aacacgggcg tgtccatct ctacacgctg 4140
accgtcagca ccgcccgtct gggcatcatg gcgcccagct ctcttactcg gacccggact 4200
tcttctca aggccctggg tgccgtgctg ctggcagggg ccttggggct gggtgccctg 4260
ctcgtgctc tcagagcgg ctataagatt cccctgcccg caggggcctc cctatagccc 4320
gggacgggct ctggacactt gcaccttgg tccatgggt gggggacagg agctgcttc 4380
cagctcgact tcagctagct gtgtccccag gcctggggcc agggcgccct gcgggcccagc 4440
gtggaggctg acaccacac agatgggtgt gaccatgtct ccttgtggag ctgggagtgt 4500
gagacagccg ccaccccaca ggccgggcta ctggcagcca cactcggctt ttgcccagt 4560
ggcagaagag accagccctc ctccatgcc cggtcacat gggggtcagg ttatitttgt 4620

agggggcttc cctctcacac tgcctcagtg ctccaaacct tccagtgigg atgttacagg 4680
gtggccccc tttaccgat gigaactg aggcgccagg acacagtggt tgcctgtcg 4740
ctggatcagt agcagagcca gagctgcctc cgagcgccat gccgcccctg ggaatcatac 4800
aggaagagca cagtggatcc aggggtggggg cctctcaccc cctaaccctg ccccccgca 4860
acctccccct tcagctttac ggcgccagt gctgaatggc ccgtggccc tccctgggcc 4920
tttgggttt gccagagaa gacagaagga cccggcttgg gctctgcat gtcctacccc 4980
tgacccagc ctcaaggggc cctcaaagg cctctcttgg gggctctggg gtcagcaca 5040
gctttctca tggatctaag cccctgtctt tcccacciga ctctgagtg atgttttggg 5100
ggatggcccc tgtggggagg agctgccatg ccggccgct gtcacggca gaaggttgct 5160
attaaaatga cataggatig c 5181

<210> 43

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 43

cttaagcgcc agagtgagag c

21

<210> 44

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 44

aagcagtggg atcaacgcag agtggccatt atggccggg

39

<210> 45

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 45

aagcagtggg atcaacgcag agt

23

<210> 46

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 46

agcgccagag tgagagcgt

19

<210> 47

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 47

igticcttta ctaccacacg ctg

23

<210> 48

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 48

gtcctctcc gtgcatatg tctc

24

<210> 49

<211> 80

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 49

ttagcagctg aggactggga ttgcgcgca gcttcccgcg gctgcttgc cctggagcgg 60

agggggagcc ccagcctcct

80

<210> 50

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 50

gagactatgg acacggagga tgac

24

<210> 51

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 51

aggccctcat ccacatacca

20

<210> 52

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 52

ggagcgcaac attttcacca gt

22

<210> 53

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 53

ccaaagggtgc aagtggtccag ag

22

<210> 54

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 54

cactggatca ctcgagggtgt tg

22

<210> 55

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 55

ccagtcaccac gctgatgtg

19

<210> 56

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 56

ctgctgtttc tcgccctgtt cgga

24

<210> 57

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 57

aatgacatgc tcctggcctt c

21

<210> 58

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 58

atgctggcaa tcccaaaaga a

21

<210> 59

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

<400> 59

tacatcctca cctccigctc agtggtccig

30

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/02279

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.⁷ C12N15/12, C07K14/47, C07K16/18, C12Q1/68, A61K38/17, A61K31/711, A61K48/00, A61K45/00, A61P3/10, A61P3/04, A61P35/00, A61P9/10, A61P3/06, A61P25/00, A61P43/00, A61K39/395, G01N33/53, G01N33/50, G01N33/15

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.⁷ C12N15/12, C07K14/47, C07K16/18, C12Q1/68, A61K38/17, A61K31/711, A61K48/00, A61K45/00, A61P3/10, A61P3/04, A61P35/00, A61P9/10, A61P3/06, A61P25/00, A61P43/00, A61K39/395, G01N33/53, G01N33/15

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

SwissProt/PIR/GeneSeq, Genbank/DBJ/GeneSeq, MEDLINE (STN), WPI (DIALOG)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Morris J. A., et al., "Niemann-Pick C disease: cholesterol handing gone awry", Molecular Medicine Today (1998), Vol.4, pages 525 to 531	1-19, 23, 24, 28, 29, 31, 35, 46, 47
A	Carstea ED., et al., "Niemann-Pick C1 disease gene: homology to mediators of cholesterol homestasis," Science (1997), Vol.277, No.5323, pages 228 to 231	1-19, 23, 24, 28, 29, 31, 35, 46, 47
A	Hua X., et al., "Sterol resistance in CHO cells traced to point mutation in SREBP cleavage-activating protein", Cell (1996), Vol.87, No.3, pages 415 to 426	1-19, 23, 24, 28, 29, 31, 35, 46, 47

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
10 July, 2001 (10.07.01)

Date of mailing of the international search report
31 July, 2001 (31.07.01)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/02279

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 30,40-45
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claims 30 and 40 to 45 pertain to diagnostic methods practiced on the human body and methods for treatment of the human body by therapy and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of Article 17(2)(a)(i) of the PCT and Rule 39(iv) of the Regulations under the PCT, to search.
2. ☒ Claims Nos.: 20-22,25-27,32-34,36-39,48-51
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

Concerning the compound obtained by using a method or a kit for screening a compound promoting or inhibiting the activity of the protein of the invention and the compound having an effect of regulating cholesterol transfer on SSD, it is completely unknown what particular compounds are involved in the scope thereof and what compounds are not involved therein. Namely, the above claims are described in a very unclear manner. Such being the case, no meaningful opinion can be presented on the inventions as set forth in the above claims.
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

The technical matter common to claims 1 to 19, 23, 24, 28, 31, 35, 46 and 47 resides in genes relating to SSD. However, 4 SSDs had been already found out before the application of the present case, as described in the background of the invention (Current Opinion in Structural Biology (1998), Vol. 8, p.435-439, Cell (1996), Vol. 87, p.415-42, Molecular Medicine Today (1998), Vol. 4, p.525-531, Science (1997), Vol. 277, p.228-231, Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1998), Vol. 95, p.9572-9577, J. Biol. Chem. Vol. 274, p.9572-9577, Cell (1999), Vol. 99, 903-915) (6). Thus, it is revealed as not novel to newly isolate SSD, which had been known as sensing cholesterol, from organs rich in cholesterol. Such being the case, the above-described common matter falls within the category of the prior art and thus cannot be regarded as a special technical feature as defined in Rule 13.2 of the Regulations under the PCT.

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☒ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl¹ C12N15/12, C07K14/47, C07K16/18, C12Q1/68, A61K38/17, A61K31/711, A61K48/00, A61K45/00, A61P3/10, A61P3/04, A61P35/00, A61P9/10, A61P3/06, A61P25/00, A61P43/00, A61K39/395, G01N33/53, G01N33/50, G01N33/15

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl¹ C12N15/12, C07K14/47, C07K16/18, C12Q1/68, A61K38/17, A61K31/711, A61K48/00, A61K45/00, A61P3/10, A61P3/04, A61P35/00, A61P9/10, A61P3/06, A61P25/00, A61P43/00, A61K39/395, G01N33/53, G01N33/15

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

SwissProt/PIR/GeneSeq, Genbank/DDBJ/GeneSeq, MEDLINE (STN), WPI (DIALOG)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	Morris J. A., et. al., Niemann-Pick C disease:cholesterol handing gone awry., Molecular Medicine Today(1998), Vol. 4, p. 525-531	1-19, 23, 24, 28, 29, 31, 35, 46, 47
A	Carstea ED., et. al., Niemann-Pick C1 disease gene:homology to mediators of cholesterol homestasis., Science(1997), Vol. 277, No. 5323, p. 228-231	1-19, 23, 24, 28, 29, 31, 35, 46, 47

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

10.07.01

国際調査報告の発送日

31.07.01

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)
郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

新見 浩一



4N

9839

電話番号 03-3581-1101 内線 3488

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	Hua X., et. al., Sterol resistance in CHO cells traced to point mutation in SREBP cleavage-activating protein., Cell(1996), Vol.87, No.3, p.415-426	1-19, 23, 24, 28, 29, 31, 35, 46, 47

第I欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 30, 40-45 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
請求項30, 40-45は、ヒトの診断方法、ヒトの身体の治療方法による処置方法に該当するものであるから、PCT17条(2)(a)及びPCT規則39(iv)の規定により、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
2. ☒ 請求の範囲20-22, 25-27, 32-34, 36-39, 48-51は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
本願がバク質の活性を促進もしくは阻害する化合物のスクリーニング方法・キットで得られる化合物、SSDに働くコレステロール輸送作用調節作用を有する化合物については、化合物として具体的にどの化合物が包含され、どのような化合物が包含されないのが全く不明であって、前記請求項の範囲の記載は著しく不明確である。前記請求項に記載された発明に係る全ての有意義な見解を示すことができない。い。
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第II欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

請求の範囲1-19, 23, 24, 28, 31, 35, 46, 47 に共通の事項は、SSDの関する遺伝子群であることである。

しかしながら、本願背景技術にも記載されるように、本願優先日当時、4つのSSDが見いだされていることから (Current Opinion in Structural Biology(1998), Vol. 8, p. 435-439, Cell(1996), Vol. 87, p. 415-42, Molecular Medicine Today(1998), Vol. 4, p. 525-531, Science(1997), Vol. 277, p. 228-231, Proc. Natl. Acad. Sci. USA(1998), Vol. 95, p. 9572-9577, J. Biol. Chem. Vol. 274, p. 9572-9577, Cell(1999), Vol. 99, 903-915) 6)、コレステロールを感知することが知られているSSDを、コレステロールが内蔵、多く存在する場所より新たに単離しようとすることは、新規でないことが明らかとなった。

よって、この共通事項は先行技術の域を越えるものではないから、PCT規則13.2における特別な技術事項であるとはいえない。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☒ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。